PROEFSTATION

VOOR

VORSTENLANDSCHE TABAK

MEDEDEELING

No. 64.

Een nieuwe bestrijdingswijze van de roode tabaksmier (Solenopsis geminata) op zaadbedden

(with english summary)

DOOR

C. H. ORDELHEIDE.

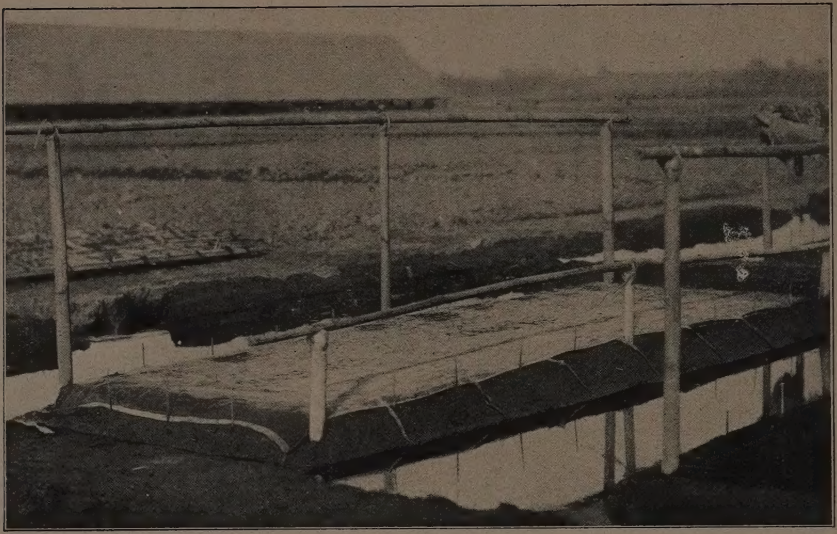

Foto 1. Een met klamboe bedekt bed direct na het uitzaaien.

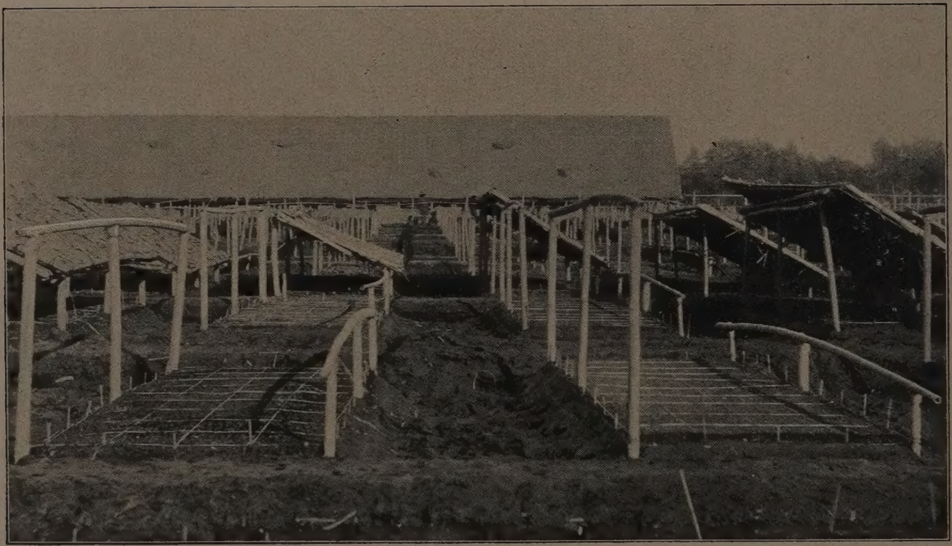

Foto 2. Links-voor een bed, dat met klamboe bedekt is geweest; rechts-voor een onbeschermd bed, waarvan alle zaden zijn weggesleept.

EEN NIEUWE BESTRIJDINGSWIJZE VAN DE ROODE TABAKSMIER (SOLENOPSIS GEMINATA) OP ZAADBEDDEN.

door

C. H. ORDELHEIDE.

Tegen het wegsleepen van tabakszaad van de bedden door de tabaksmier is dit jaar (1929) op de onderneming Mandjoong (beheerder de Heer G. J. RIJKEN) met succes de volgende methode toegepast.

Direct na het uitzaaien wordt over het bed een stuk klamboegoed gespannen, dat door begieten met water uit een fijnen gieter tegen den grond wordt aangedrukt. De mieren kunnen het zaad niet door de mazen bereiken en wegsleepen.

De klamboe blijft er zoolang op, totdat de zaden beginnen te ontkiemen, dus niet langer dan $\pm$ 4 dagen. Anders, wanneer de plantjes reeds te groot zijn, zouden deze aan de klamboe blijven haken en zoodoende worden weggetrokken. Zijn de zaden bovendien maar eenmaal ontkiemd, dan worden ze door de mieren niet meer weggehaald.

Als klamboe kan men gerust oud goed gebruiken met eenige gaten erin, daar de mieren het blijkbaar ook reeds onbehaaglijk vinden over het natte doek te loopen.

Wanneer men ondanks de gewone bestrijdingswijzen in bepaalde tuinen toch ernstig met mieren op de zaadbedden te kampen heeft, is deze methode een uitkomst.

Dit jaar werden op Mandjoong een groot aantal bedden afwisselend al en niet met klamboe beschermd en met elkaar vergeleken op een beddenterrein, dat zeer groote overlast van mieren had. De zaden kwamen bij alle bedekte bedden mooi op, terwijl ze bij de onbehandelde bedden bijna geheel weggehaald waren.

SUMMARY.

When the usual methods against ants on tobaccoseedbeds, appear not to be sufficient, it is advised to cover the beds for $\pm$ 4 days with „klamboe".

On fotograph Nr. 2 is to be seen, that on the left seedbed treated in this manner the young plants are not carried away; on the right untreated seedbed all seeds have been carried away.

Immediately after germination the „klamboe" must be removed.

INHOUD:

		Blz.
I.	*Inleiding*	1
II.	*Over de bevruchtings- en bloembiologie*	3
	1. De ontwikkeling van den bloemknop.	3
	2. Zelf- en kruisbevruchting	4
	3. Parthenogenesis, parthenocarpie en phenospermie . .	6
III.	*Bijdrage tot de kennis van eenige erfelijkheidsverschijnselen bij tabak*	13
	1. Plastiden-erfelijkheid: de z.g. „patik radja", een albomaculata-vorm	13
	2. Erfelijkheid van bladvorm en kwaliteit.	20
IV.	*Spontane mutaties bij tabak*	34
	1. Definitie van mutatie en haar consequenties	34
	2. Overzicht der ons bekende spontane mutaties bij tabak.	35
	3. Terugmutatie	41
	4. Steriele mutanten	41
	5. Het tijdstip van muteeren	42
	6. Paralelle en groepsgewijze mutatie (mutatieperiode). .	44
V.	*Kunstmatig opgewekte mutaties*	47
	1. Bestraling en proefplanten	48
	2. Overzicht der mutanten, opgetreden in de nakomelingen der X-bestraalde Kanari.	49
	3. Analyse van eenige der nader bestudeerde mutanten.	51
	4. Paralelle, analoge, secundaire en groepsgewijze mutatie (mutatieperiode)	61
	5. Vergelijking met resultaten van andere onderzoekers.	67
VI.	*Richtlijnen voor de veredeling der Vorstenlandsche tabak.*	72
	1. De zuivere lijn	72
	2. Kruising en de hierop volgende selectie	75
	3. Terugkruising.	78
	4. Veredeling door kunstmatig opwekken van mutaties.	80
VII.	*Summary: Principles and results of recent tobacco-breeding in the Vorstenlanden.*	85

I. INLEIDING

Het zou zijn voordeelen hebben, wanneer om de 10 — 12 jaar eens een kort overzicht verscheen van den stand van het veredelingsvraagstuk aan ons Proefstation.

In het begin dezer eeuw was de *selectie* het gedeelte der veredeling, dat het meeste op den voorgrond trad. Door LODEWIJKS is een uitstekend opstel nagelaten over de opvattingen, die men destijds (± 1910) ten opzichte van de selectie huldigde (*3*).

Eenige jaren daarna voerde d'ANGREMOND (*1*) het idee in, dat door *kruising en vervolgens langdurige selectie* in de verdere generaties nieuwe waardevolle, tenslotte constante soorten zouden zijn te krijgen. Dit werk: kruising van locale rassen en vervolgens selectie gedurende vele generaties maakt ook thans nog één der hoofdwerkzaamheden van het veredelingsprogramma aan ons Proefstation uit.

Bij deze beide veredelingsmethoden heeft zich sinds twee jaren een derde gevoegd, n.l. die om nieuwe waardevolle vormen door *kunstmatig opwekken van mutaties* in de locale rassen te verkrijgen.

Er is zoo alle aanleiding, om ons hedendaagsche standpunt ten opzichte van de tabaksveredeling in de Vorstenlanden weer eens vast te leggen. Degenen, die na ons komen hebben dan een basis, waarop zij voort kunnen werken, en die zij verder met de evolueerende inzichten in overeenstemming kunnen brengen.

Ook op organisatorisch gebied staan wij bij de veredeling thans voor belangrijke nieuwigheden.

Ten eerste zal de systematische selectie in de ± eerste 8 generaties na een kruising niet langer op één terrein plaats hebben, doch op de twee hoofd-grondtypen van het Vorstenlandsche tabaksareaal (mergelklei en andesietstofgrond).

Ten tweede zullen na de ± 8e generatie de goede zaadnummers over meerdere grondsoorten op de ondernemingen worden verspreid en daar zal gedecentraliseerd de voortgezette selectie door ondernemingsselectionisten onder leiding van het Proefstation worden uitgevoerd.

Deze publicatie kan nu tevens voor de ondernemingsselectionisten

een handleiding wezen voor de grondslagen der tegenwoordige tabaksveredeling.

Over de genetica van tabak is speciaal in Holland en Amerika veel werk verricht; het aantal publicaties overschrijdt reeds ver de honderd.

Hier zullen we echter aan het eind van elk hoofdstuk alleen die literatuur vermelden, die speciaal is aangehaald; voor het overige kunnen we verwijzen naar de samenvatting van EAST (2), die tot 1928 bijgewerkt is, en naar het resumé over tabak in de monographie van MATSUURA (*4*), die tot 1925 loopt.

Alle foto's werden door Dr. THUNG genomen, terwijl wij den Heer JAGOOS bijzonderen dank verschuldigd zijn voor het nauwkeurige werk in den selectietuin.

LITERATUUR.

1. d'ANGREMOND A. Wat mogen we van F_1-generaties bij de tabak verwachten, Med. Proefstation v. Vorstenl. Tabak **23**: 45 — 65, 1916.
2. EAST E. M. The genetics of the genus Nicotiana, Bibliographia Genetica **4**: 243 — 320, 1928.
3. LODEWIJKS J. A. Over selectie van tabak, Med. Proefstation v. Vorstenl. Tabak **7**: 33 — 58, 1914.
4. MATSUURA H. A bibliographical monograph of plant genetics (Genic Analysis 1900 — 1925, Nicotiana: 126 — 135, Tokyo 1929.

II. OVER DE BEVRUCHTINGS- EN BLOEMBIOLOGIE.

1. DE ONTWIKKELING VAN DEN BLOEMKNOP.

Om een idee te krijgen over de snelheid en wijze van ontwikkeling van een bloemknop van tabak onder de klimaatsomstandigheden van Klaten, werden metingen en waarnemingen gedaan aan een 100-tal bloemknoppen van KANARI.

Daarbij werden zoowel bloemknoppen nagegaan aan reeds lang en aan eerst kort in bloei zijnde inflorescenties.

Het was opvallend zoo uniform als de ontwikkeling van de verschillende bloemknoppen plaats had.

Vanaf het eerste oogenblik, dat een bloemknopje zich aan den stengel vormde waren er gemiddeld 10 dagen noodig voordat de bloemkroon door de kelkbladen heen begon te breken.

45 der bloemen waren 's morgens op den 14den dag aan het opengaan. De lengtemeting van de bloemkroon dezer knoppen, alsmede eenige opmerkingen over het verder bloeiverloop vindt men in onderstaande tabel:

TABEL 1. ONTWIKKELING EN BLOEIVERLOOP BIJ 45 BLOEMKNOPPEN VAN N. TABACUM VAR. KANARI IN KLATEN.

Gemiddelde lengte der bloemkroon in mm				Bloeiverloop		
11e dag	12e dag	13e dag		14e dag	15e dag	16e dag
10u v.m.	10u v.m.	10u v.m.	5u n.m.	7u v.m.	7u v.m.	7u v.m.
15.9±0.10	25.4±0.27	45.5±0.36	49.5±0.23	Alle knoppen openen zich. Roode bloemen	Alle bloemen rose	43 bloemen verwelkend, 2 [illegible]

De zeer kleine middelbare fouten geven een duidelijken indruk van de uniformiteit der bloemontwikkeling.

Bij het opengaan der bloemen op den ± 14en dag zijn meestal juist ook de antheren open gesprongen. Soms gebeurt dit eenige uren eerder, ook wel eens iets later. De meeldraden, die bij de in de Vorstenlanden gekweekte vormen meest iets langer zijn dan de stijl, storten daarbij dan in het algemeen een flinke hoeveelheid stuifmeel op den kleverigen stempel.

Voor het verzamelen van stuifmeel ten behoeve eener den volgenden dag uit te voeren kruising moet men dus één dag jongere bloempjes gebruiken (zie d'ANGREMOND (5)) en voor castratie gebruike men voor alle zekerheid bloemknoppen, die zich in het stadium 2 dagen voor het opengaan der bloemen bevinden (± 2$^1/_2$ cm groote bloemen).

Van den dag der bestuiving totdat het rijpe zaad geoogst kan worden (bruine vruchten) verloopen nog ± 3 weken.

Bij inhullen in de van dicht linnen gemaakte hoezen verloopt zoowel de knopontwikkeling als de aanrijping veel langzamer. Voor de ontwikkeling van eerste bloemknop-aanlegsels tot opengaande bloem zijn ± 3 weken noodig en van dat stadium tot rijpe vruchten ± 1 maand.

Wil men dan ook de aanrijping bevorderen, dan doet men goed na het vruchtzetten de klamboes te verwijderen.

---

2. ZELF- EN KRUISBEVRUCHTING.

Zooals we zagen heeft ongeveer ten tijde van het opengaan der bloemen zelfbestuiving plaats. De kans, dat bestuiving met vreemd stuifmeel vóór de zelfbestuiving plaats vindt, is dus gering. Om deze reden is JENSEN van het idee uitgegaan, dat hoewel hij kort na 1900 in een populatie selecteerde, kruis*bevruchting* niet voor zou zijn gekomen en dientengevolge de uitgezochte nummers homozygoot moesten wezen, m.a.w. „zuivere lijnen" in hun nakomelingen zouden blijken te zijn.

Bij tabak is kruisbestuiving door den wind onwaarschijnlijk, door insecten is dit echter wel mogelijk. Hoewel voor de tropen het insectenbezoek niet groot is, worden de bloemen toch door bijen en tabakswantsen bezocht. JENSEN schreef zelf in 1901 (*30*) pag. 79) betreffende kruisbestuiving: „Het bleek verder, dat de laatste in de natuur inderdaad voorkomt, daar twee kleine bijensoorten in groote hoeveelheden 's avonds en 's morgens rondvliegen met de kootjes vol van stuifmeel van tabaksbloemen".

Het leek ons nu belangrijk eens na te gaan welken invloed vreemd stuifmeel nog op de bevruchting kon hebben korteren en langeren tijd na de zelfbestuiving.

Daartoe gaven wij 8 ingehulde KANARI-bloemen, die 's morgens vroeg waren opengegaan en waarbij zelfbestuiving op de normale wijze had plaats gevonden om 8 uur v.m. nog wat stuifmeel erbij van den DWERGBOOM, een localen ook als F_1— hybride makkelijk herkenbaren vorm. Daarna werden de bloemen weer in de klamboe gedaan.

Van 178 nakomelingen waren niet minder dan 26% exemplaren KANARI × DWERGBOOM F_1 en 74% gewone KANARI.

Verder werden eenige tientallen gecastreerde ingehulde KANARI-bloemen 's morgens vroeg rijkelijk met KANARI stuifmeel bestreken, een gedeelte kreeg na verschillende tijden er stuifmeel van DWERGBOOM bij.

Evenzoo kregen gecastreerde onder klamboe verblijvende bloemen van het locale ras E eerst E-stuifmeel en later na verschillende tijden DWERGBOOM-stuifmeel.

Het resultaat volgt uit het volgende overzicht.

TABEL 2. INVLOED VAN EIGEN EN VAN VREEMD STUIFMEEL.

Tijd verloopende tusschen de bestuiving met eigen en de volgende met Dwergboomstuifmeel	Percentage hybriden	Totaal aantal planten
KANARI		
2½ uur	27 %	211
4½ uur	20 %	171
7½ uur	10 %	158
E		
4 uur	17 %	183
8 uur	11 %	195

Het resultaat der eerste proef wordt door deze uitkomsten bevestigd. Zelfs 8 uur na de zelfbestuiving wist het vreemde stuifmeel nog 10 % der eitjes te bevruchten.

Zoodoende *moet kruisbevruchting in een tabaks-populatie nu en dan voorkomen. Daarom twijfelen wij er thans aan, of de oerboomen van* JENSEN *wel zuivere lijnen zullen zijn geweest. Wij doen beter ons deze als gemiddeld zwak heterozygoot voor te stellen.*

Op de beteekenis hiervan komen wij in hoofdstuk VI uitgebreider terug.

3. PARTHENOGENESIS, PARTHENOCARPIE EN PHENOSPERMIE.

In de literatuur wordt meerdere malen melding gemaakt van parthenocarpie en parthenogenesis (apogamie) bij tabak.

Onder parthenocarpie verstaan wij de ontwikkeling van een vrucht bij buitensluiting van bevruchting zonder dat kiembaar zaad wordt gevormd, terwijl wij van parthenogenesis zullen spreken wanneer in dat geval ook kiemkrachtige zaden ontstaan. [1])

Wanneer parthenogenesis bij tabak een algemeen verschijnsel zou wezen, konden wij bij kruisingsproeven allerlei afwijkingen van de verhoudingen volgens de Mendelsplitsing verwachten. Dan zouden wij het „mendelen" ook bezwaarlijk als richtlijn voor onze veredeling kunnen bezigen.

Het leek ons dus zóó'n principieel punt, dat we er nog eens een flink aantal proeven over namen.

JENSEN (*10*) vermeldt, dat hij in 1908 een aantal van 119 tabaksbloemen castreerde vóórdat de helmknoppen opengegaan waren. Er werd geen zaad verkregen. Waarschijnlijk werden deze proeven genomen met KANARI.

Mrs. THOMAS (*12*) vond o.a. bij castratie van CUBA-tabak, dat kiembaar zaad werd gevormd.

Op deze wijze kon zij afwijkingen verklaren in reciproke kruisingen van Nic. sylvestris × Nic. Affinis, waarbij naast hybrideplanten exemplaren volkomen gelijk aan de moederplant voorkwamen.

Ook WELLINGTON (*13*) meende dergelijke aan de moeder gelijke planten in de F_1 van soortkruisingen van EAST te kunnen verklaren door aan te nemen, dat door bijzondere prikkeling van het vreemde stuifmeel parthenogenesis geïnduceerd was. Hij kreeg door diverse prikkelingen ook wat zaad, echter zonder embryos, dus meer dan phenospermie kon hij op die manier niet opwekken.

Bij gewone castratie kreeg hij slechts éénmaal rijkelijk kiembaar zaad, welk geval op een proeffout moest worden teruggevoerd.

KOSTOFF (*11*) verkreeg met stuifmeel van Petunia violacea bij vele tabaksrassen parthenocarpie, soms ook parthenogenesis. Het aantal zaadjes per vrucht bedroeg in zoo'n geval niet meer dan 1 tot 3. De planten, die eruit ontstonden waren gelijk aan de moederplant. Verder merkte deze onderzoeker op, dat bij verschillende soortkruisingen in den winter voornamelijk parthenocarpisch zaad met alleen endosperm ontstond, terwijl in de lente en voorzomer het aantal zich ontwikkelende bevruchte eicellen overweegt ten opzichte van de zaden met alleen

[1]) Deze beteekenis van parthenogenesis omvat dus de apogamie en parthenogenesis volgens de definitie van WINKLER (*14*)

endosperm. Hier wordt dus invloed van de uitwendige omstandigheden op de parthenocarpie na bestuiving met vreemd stuifmeel geconstateerd.

GOODSPEED (7,8) deed de proeven met het CUBA-tabakszaad van MRS. THOMAS na. Hij castreerde 800 bloemknoppen van 95 planten op verschillende manieren door wegknippen der antheren, door wegknippen van de stigma en door verwijdering van beide. Hij verkreeg parthenocarpisch 200 vruchten, waarvan 9 vruchten met kiembaar zaad. In deze vruchten bevond zich ook veel voos zaad (met alleen een zaadhuid of alleen een zaadhuid en endosperm). De tijd van castratie: noch wat betreft de grootte der bloemknoppen, noch wat aangaat den leeftijd der bloemwijze, scheen op deze parthenogenesis invloed te hebben. Bij aanhouden van één enkele bloem per inflorescentie scheen meer parthenogenetisch zaad te zijn ontstaan dan bij aanhouden van meer dan één bloem.

Waar HOWARD (9) in Britsch-Indië bij hetzelfde materiaal van MRS. THOMAS geen kiembaar zaad verkreeg, moeten wij de conclusie trekken, dat nog onbekende omstandigheden op de parthenogenesis en parthenocarpie invloed hebben.

FRUWIRTH (6) kon bij een Duitsche tabakslijn slechts zwakke parthenocarpie waarnemen.

GOODSPEED wees er nog eens op, dat bij de castratie de allergrootste voorzorgsmaatregelen moeten worden genomen. In één geval verkreeg hij rijkelijk zaad, wat op een onnauwkeurigheid berustte.

In 1929 hebben wij proeven over parthenogenesis en parthenocarpie met eenige locale, zoowel als met eenige vreemde variëteiten in Klaten genomen. De locale variëteiten waren: KANARI, E, E × KANARI F_1 en DWERGBOOM; verder de KEDOE uit Besoeki. De van buiten Java afkomstige vormen waren: CUBAN SEADLEAF, SAMSUN, BIG HAVANNA, HATANO, OKINAWA, en TIMOR „gebobbeld" (meerdere dezer vormen waren duidelijke populaties, speciaal de HATANO en OKINAWA).

Bij het castreeren werd de grootste omzichtigheid betracht: niets werd aan de inlandsche laboranten overgelaten, alle castraties werden door ons zelf uitgevoerd. De gebruikte schaartjes werden na castratie van elke bloem opnieuw met alcohol gereinigd.

Wanneer de stempel bij ongeluk aangeraakt was, gebruikten wij deze bloem verder niet, alle gecastreerde bloemen werden van draadjes voorzien, direct daarop ingehuld, enz.

Het maakte geen verschil uit, of de helmknoppen alléén, de stempels alléén of beide werden verwijderd.

Er trad een duidelijk verschil tusschen de verschillende variëteiten op bij het parthenocarpisch „zetten" der gecastreerde vruchten. Bij

sommige vielen de vruchtbeginsels eigenlijk direct af, bij andere groeiden zij gedeeltelijk door, al bleven ze kleiner dan normale bevruchte vruchtbeginsels.

Het volgende overzicht geeft er een idee van:

TABEL 3. PARTHENOCARPIE BIJ EENIGE TABAKSRASSEN.

	Aantal bloemen gecastreerd	Aantal vruchten 8 — 10 dagen na het castreeren nog niet afgevallen
HATANO	55 (6 planten)	0
DWERGBOOM	133 (10 planten)	2
SAMSUN	68 (9 planten)	2
KEDOE	94 (10 planten)	4
BIG HAVANNA	50 (7 planten)	5
CUBAN SEADLEAF	94 (10 planten)	67
KANARI	243 (30 planten)	175
E	127 (15 planten)	69
E × KANARI F_1	70 (5 planten)	54
TIMOR „gebobbeld"	64 (11 planten)	13 (veel voos zaad)
OKINAWA	92 (13 planten)	65 (veel voos zaad)

Terwijl bij de eerste 5 variëteiten de onbevruchte bloempjes spoedig afvallen, groeit bij de 6 andere vormen een groot deel der vruchtbeginsels nog een tijd door.

Bij KANARI werd één zaadbol met rijkelijk kiembaar zaad verkregen, wat wel op een fout bij de castratie moet berusten (waarschijnlijk was een helmknop bij castratie reeds geopend), want bij alle vermelde gevallen van volkomen zekere parthenogenesis bij tabak kwam dan naast weinig kiembaar ook veel voos zaad voor.

Bij OKINAWA werden na 3 weken 17 zaadbollen geoogst met tienduizenden zaadjes en bij TIMOR 13 zaadbollen met eveneens tienduizenden zaadjes. Deze zaadjes bestonden echter slechts uit een zaadhuid, hetgeen het geheel uitblijven van kieming verklaarde. Het gewicht der zaadjes was ook opvallend lager dan na bevruchting.

	Ontstane zaadjes:		Gewicht per 10000 zaden.
OKINAWA	No. 1417 :	19230 korrels	81 mgr.
„	No. 1421 :	13580 „	81 „
TIMOR	No. 1428 :	7725 „	67 „
„	No. 1429 :	6390 „	58 „
„	No. 1430 :	17275 „	61 „

Foto 1: Parthenocarpie gepaard met phenospermie bij het Japansche Okinawa-ras te Klaten.

Parthenocarpy and phenospermy in the japanese variety Okinawa at Klaten.

Foto 2. De homozygote Kanari, een der voornaamste Vorstenlandsche tabaksrassen.

The homozygous Kanari, one of the principal local varieties.

Normaal tabakszaad weegt 700 mgr. per 10000 korrels, dus ongeveer tien maal zooveel.

Bij geen der andere variëteiten werd zaad aangetroffen in de gerimpelde vruchtjes.

Behalve, dat de vruchtjes met voos zaad gemakkelijk afvielen, was er nog een andere eigenaardigheid.

Bij dezelfde variëteit, ja zelfs bij dezelfde plant werden den éénen dag bij castratie vruchtjes met (voos) zaad gevormd (zie foto 1), den anderen dag vielen alle vruchtjes direct af, terwijl een volgenden dag castratie echter weder leidde tot parthenocarpisch zaad. Nog onbekende factoren hebben dus invloed op dit verschijnsel van phenospermie.

PROEVEN MET MAGNESIUMCHLORIDE.

Eenige proeven werden genomen over bestrijken van de stempels der gecastreerde bloemen met magnesiumchloride. Bij 34 aldus behandelde bloemen van KANARI (5 planten) waren na 18 dagen nog 13 vruchtbeginsels aanwezig; bij 38 bloemen van KANARI werden na deze behandeling 10 dagen later nog 20 vruchtbeginsels aangetroffen. Zaad werd evenmin gevormd, zoodat deze uitslag niet afwijkt van onbehandelde gecastreerde bloemen.

INVLOED VAN VREEMD STUIFMEEL.

Nog werden eenige proeven genomen met kruisbestuiving van afwijkende tabaksvariëteiten.

OKINAWA ♀ werd bestoven met DWERGBOOM ♂: de 233 nakomelingen toonden alle hybridekarakter; evenzoo de omgekeerde kruising (216 planten).

De reciproke kruisingen van KANARI (KW 10—lijn) met DELI (lijn 8 Deli Mij.) gaven ook nooit aan de moeder gelijke planten, doch slechts hybriden.

Wij kunnen onze inzichten als volgt samenvatten: parthenogenesis werd door ons noch bij gewone castratie, noch door prikkeling met magnesiumchloride of vreemd stuifmeel vastgesteld.

In aanmerking nemende de meer of minder sterke neiging tot parthenocarpie en phenospermie, alsmede de in de literatuur bekende hoewel zeldzame gevallen van parthenogenesis, bovendien de gebleken afhankelijkheid dezer verschijnselen van nog onbekende omstandigheden, zullen wij een enkel maal met de mogelijkheid van parthenogenesis rekening moeten houden.

Het zeldzame voorkomen ervan noopt ons echter in het algemeen niet, om afwijkingen van de normale bevruchting bij kruising te gaan veronderstellen, doch zal misschien in sommige gevallen eventueele afwijkingen kunnen verklaren.

LITERATUUR.

5. d'ANGREMOND A. Eenige aanwijzingen over het kunstmatig kruisbestuiven bij tabak, Med. Proefstation v. Vorstenl. Tabak. 33: 89—95, 1918.
6. FRUWIRTH C. Parthenogenesis bei Tabak, Zeitschrift für Pflanzenzüchtung 2: 95—97, 1914.
7. GOODSPEED T. H. Parthenocarpy en Parthenogenesis in Nicotiana, Proc. of the National Academy 1: 249—272, 1915.
8. GOODSPEED T. H. Parthenogenesis, Parthenocarpy and Phenospermy in Nicotiana Univ. of California Publications in Botany 5: 249—273, 1915.
9. HOWARD G. L. C & KASHI RAM. Studies in Indian Tobaccos. IV. Parthenocarpy en Parthenogenesis in two varieties of Nicotiana tabacum L. var. CUBA and var. MIRODATO, Mem. Dep. Agr. India, Bot. Ser. 23: 1—16, 1924.
10. JENSEN Hj. Onderzoekingen over Tabak der Vorstenlanden, Med. Proefst. v. Vorstenl. Tabak 5: 92—93. 1913.
11. KOSTOFF D. Ontogeny, genetics, and cytology of Nicotiana hybrids. Genetica 12: 34—39, 1930.
12. THOMAS ROSE H. Parthenogenesis in Nicotiana, Mendel Journ. 1: 5—10, 1909.
13. WELLINGTON R. Studies of natural and artificial parthenogenesis in the genus Nicotiana, Amer. Naturalist 47: 279—306, 1913.
14. WINKLER H. Parthenogenesis und apogamie im Pflanzenreiche, Progr. rei bot. 2: 293—454, 1908.

III. BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN EENIGE ERFELIJKHEIDS-VERSCHIJNSELEN BIJ VORSTENLANDSCHE TABAKSRASSEN.

1. PLASTIDEN-ERFELIJKHEID: DE Z.G. „PATIK RADJA", EEN ALBOMACULATA-VORM.

De tabaksaanplant in de Vorstenlanden levert jaarlijks bij alle rassen een aantal wit-bonte planten op, de z.g. „patik radja", die door de Javaansche koelie als geluksplanten worden beschouwd.

Voor het erfelijkheidsonderzoek hiervan kozen wij een wit-bonte E 2 K plant uit, staande als enkeling te midden van eenige honderden normale planten, alle nakomelingen van een eveneens normale zelfbestoven ouder, uit een lijn, die reeds sinds talrijke generaties in stamboomcultuur door het Proefstation was voortgeplant. Dit dus als mutatie op te vatten exemplaar vertoonde slechts op enkele bladen eenige vlekjes, die er op het oog wat lichtergroen uitzagen.

Microscopisch onderzoek toonde aan, dat deze bontheid veroorzaakt wordt, doordat in bepaalde cellagen (b.v. in de ééne laag pallisaden-parenchym of in één of meer lagen spons-parenchym) geen chlorophyl voorkomt.

Van bedoelde plant werden F_1-nakomelingen gekweekt, terwijl tevens een reciproke kruising werd gemaakt met gewone groene KANARI-planten.

De „bontheid" bleek alleen via de moeder eenigszins over te gaan. In de volgende tabel vindt men de uitkomsten samengevat:

TABEL 4.

P — planten	F_1 — planten	
	bont	groen
KANARI		
Bont: zelfbestoven	57	485
Groen ♀ × Bont ♂	0	505
Bont ♀ × Groen ♂	48	617
JAVAANSCHE TABAK		
Bont: zelfbestoven	8	284

Ook van een gesteelde Javaansche tabaksplant, die wit-bont was, werden nakomelingen door zelfbestuiving gekweekt.

Het aantal bonte F_1—planten en ook de sterkte der bontheid was betrekkelijk gering. Vervolgens werd nagegaan of selectie van de vruchten met de witste vrucht- en kelkbladen der bontste planten naast minder bonte vruchten en zelfs uiterlijk geheel groene vruchten nog invloed op de nakomelingen had.

Inderdaad was dit het geval, zooals uit tabel 5 blijkt. Er traden nu in tegenstelling met vroeger *geheel* witte kiemplantjes op, die echter eenige dagen na de ontkieming onherroepelijk afstierven.

Onder de bonte planten kwamen thans ook vele exemplaren voor, waarvan bladgedeelten in *alle* cellagen de chlorophylkorrels misten.

TABEL 5.

F_1 — planten (zelfbestuiving)	F_2 — planten		
	wit	bont	groen
KANARI (bont)			
Witte vrucht	681	0	0
Idem met groene strepen	175	141	377
Groene vrucht met witte strepen	0	52	754
Groene vrucht aan zwak bonte plant	0	0	685
JAVAANSCHE TABAK (bont)			
Witte vrucht	705	0	0
Groene vrucht met witte strepen	88	80	462
Groene vrucht aan zwak bonte plant	0	0	487

Groene KANARI-planten en groene planten der Javaansche tabak uit deze F_1 gaven verder uitsluitend groene nakomelingen.

Volgens de terminologie van CORRENS (*18, 19*) moeten wij hier van een *albomaculata*-vorm spreken. De eigenaardige erfelijkheid van dit type planten heeft CORRENS (*19*) trachten te verklaren, en dit geval bij tabak bevestigt in alle opzichten diens aannamen.

Onder de typische kenmerken van deze soort bontheid noemen wij:

1e. De erfelijkheid alléén via de moederplant, waarbij de wit-bonte eigenschap dus nooit met het stuifmeel overgaat.

2e. Het optreden in de nakomelingen van zeer uiteenloopende verhoudingen tusschen het aantal geheel witte, bonte en normale geheel groene planten al naar gelang wij zaad oogsten van vruchten respectievelijk met geheel witte, met bonte of met geheel groene vrucht- en kelkbladen.

3e. De verdeeling van de chlorophylkorrels in oud uitgegroeid blad, n.l. het volledig ontbreken van chlorophyl-korrels in één of meer lagen parenchymcellen (pallisade- en spons-parenchym). Hierbij wisselen de lagen, die chlorophylvrij zijn van plaats tot plaats in het blad: nu eens één of meer cellagen sponsparenchym, dan weer de pallisade-parenchym-laag, soms weer alle lagen, enz. Bonte plekken liggen dikwijls geheel geisoleerd te midden van groote geheel groene weefselcomplexen.

4e. Het geleidelijk zich ontwikkelen der chloropylvrije cellagen uit eerst geelgroene complexen in het jonge weefsel gedurende de ontplooiïng van het blad.

Plaatselijk verliest het blad dus langzamerhand zijn chlorophyl, wordt dus geleidelijk aan bont.

Tusschen de bontheid bij de bestudeerde KANARI en de Javaansche tabak bestond nog een gradueel verschil: bij de Javaansche tabak ging het laatst genoemde proces snel, bij de KANARI langzaam. Daar chlorophylvrije cellen zich minder blijken te strekken groeide het groene weefsel scheef en bobbelig uit om de witte plaatsen.

Deze *albomaculata*-vorm gedraagt zich analoog met de beschreven gevallen bij Primula door GREGORY (*20*), Antirrhinum door BAUR (*15, 16*) en eenige andere planten door CORRENS (*18, 19*) en CHITTENDEN (*17*). Het heele geval laat zich met de volgende aannamen verklaren.

1e. De bonte plant heeft drie soorten cellen:

a. jonge cellen met nog „onbepaalde" plastiden, d.w.z. plastiden, die nog groen òf nog wit (chlorophylverlies) kunnen worden.

b. cellen met chlorophyl-houdende plastiden;

c. cellen met chlorophylvrije plastiden.

De stadia *b* en *c* zijn definitief en kunnen dus niet weer in stadium a omgezet worden.

2e. De erfelijkheid is niet in de chromosomen gelocaliseerd, doch wordt met de plastiden overgebracht. Daar bij bevruchting van de mannelijke plant geen plastiden mee overgaan oefent de aard van den vader in dit opzicht dus geen invloed uit.

3e. Naar gelang de eicel uit een cel met definitief witte, uit een cel met definitief groene of uit een cel met nog niet definitieve plastiden door deeling is ontstaan, krijgen wij respectievelijk volkomen witte, normaal groene òf bonte planten.

Het is goed dit type bontheid te onderscheiden van een door HONING (*21*) bestudeerde mantelchimaeren-bontheid bij tabak en een infectieuse bontheid door THUNG ontdekt en rein geisoleerd.

De door HONING bestudeerde vormen waren *evanidotunicata* met

een *over de geheele plant aaneengesloten cellaag chlorophylvrij weefsel* onder de epidermis (bladbovenzijde en bijna de geheele bladonderzijde) en *evanidonucleata* met een aaneengesloten groene cellaag onder de epidermis (boven- en onderzijde) en daarbinnen chlorophylloos weefsel.

Daar de eicellen uit subepidermaal weefsel ontstaan, kreeg HONING uit de eerst genoemde moederplanten slechts zuiver witte afstervende planten, uit de laatste slechts geheel groene nakomelingen. Het pollen had geen invloed op de nakomelingen. Het geval van HONING wijkt dus o.a. door de volgende punten van het onze af:

1e. door de manier van erfelijkheid; de bontheid gaat op geen enkele wijze op de nakomelingen over;

2e. door de regelmatige localisatie der chlorophylvrije en chlorophylhoudende cellen, waarbij we met mantelchimaeren in de zin van NOACK (22) te doen hebben.

Het feit, dat van bedoelde mantelchimaeren geen bonte nakomelingen kunnen worden verkregen in tegenstelling met onze *albomaculata* wijst op een verschil, dat tusschen beide vormen van bontheid moet bestaan, maar waarvan we den grondslag niet kennen. Men zou zich bijvoorbeeld kunnen voorstellen, dat bij de mantel-chimaeren-bontheid tijdens de reductiedeelingen het weefsel, waaruit de eicel ontstaat steeds in de definitieve phase is overgegaan, terwijl dit bij de *albomaculata* dan nog niet steeds gebeurd is, zoodat m.a.w. in het eerste geval voor de cellen in een jonger ontwikkelingsstadium de beslissing: groen of wit valt dan in het laatste geval. Meer dan een hypothese is dit echter niet.

Het plastiden-erfelijke geval van *albomaculata*-bontheid wijkt in zijn gedrag in menig opzicht af van de besmettelijke bontheid door THUNG ontdekt (vgl. foto 3,4,5), voornamelijk door:

1e. De verdeeling van de chlorophylvrije plekken, die zich evenals bij de erfelijke bontheid geleidelijk via een gele kleur tot wit ontwikkelen is onregelmatig, niet laagsgewijze in cellenreeksen evenwijdig aan de bladoppervlakte gerangschikt, zooals bij de *albomaculata*.
In tegendeel, het weefsel verliest zijn chlorophyl plaatselijk over de totale dikte van het blad;

2e. Door sapinfectie en door enting kan deze bontheid op andere tabaksplanten worden overgebracht, hetgeen niet gelukt bij de erfelijke bontheid;

3e. Wij moeten de chlorophylvrije plastiden als dood beschouwen in tegenstelling tot de witte plastiden der *albomaculata*-planten. Dit blijkt o.a. daaruit, dat de eerste hun zetmeelopbouwend vermogen uit suikers hebben verloren, wat in het geheel niet het geval is bij de laatste; bovendien plasmolyseeren de eerstgenoemde cellen niet

Foto 3. Boven: erfelijk bonte albomaculata vorm en wel: rechts bij gesteelde Javaansche tabak, links bij Kanari. Beneden: besmettelijke virus-bonte tabak.

Above: variegated albomaculata type of Kanari (at left) and native tobacco (at right) Below: virus-disease leaves.

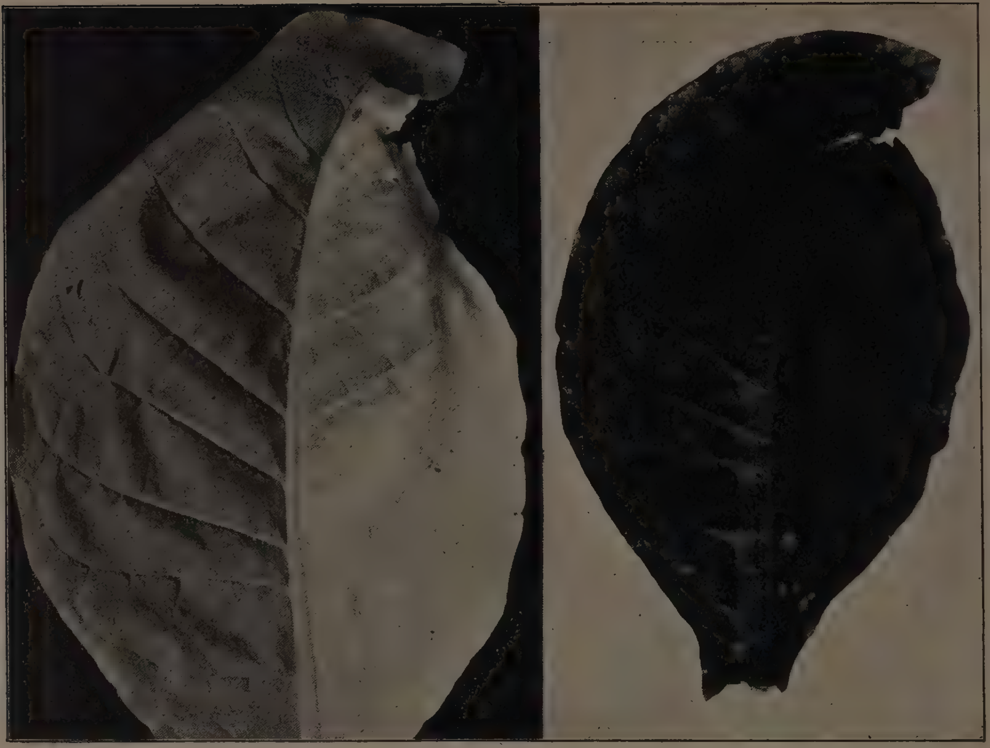

Foto 4. Links albomaculata blad van Kanari-lijn. Rechts : Jodium-proef van Sachs bij hetzelfde blad na 2 dagen in 8% saccharose-oplossing. (Overal zetmeelvorming).
at left: fresh albomaculata-leaf of Kanari-strain. at right: Iodine experiment after 2 days in Sugar-Solution.

Foto 5. Links: chlorophylverdeeling in virus-bont Kanari-blad.
Rechts: Jodium-proef van Sachs bij hetzelfde blad na 2 dagen in saccharose-oplossing (zetmeel alléén in weefsel met chlorophyl).
at left: fresh virus-disease leaf.
at right: Jodine experiment after 2 days in sugar solution.

meer en de celinhoud ziet er gecoaguleerd uit, alles in afwijking van wat we bij de chlorophylvrije cellen der *albomaculata*-planten waarnemen;

4e. De bontheid gaat niet op de nakomelingen over; we krijgen alleen normaal groene planten. Hoewel uiterlijk vele vruchten er even „bont" uitzagen als bij de *albomaculata* en het zaad dezer bonte vruchten langzamer kiemde dan dat der groene vruchten van dezelfde plant kon onder meer dan duizend der nakomelingen geen enkele bonte plant worden geconstateerd.
Waarschijnlijk hangt dit samen met het feit, dat de eicel alleen uit „groene" cellen zal kunnen stammen, omdat de „witte" cellen afgestorven zijn.

LITERATUUR.

15. BAUR E. — Das Wesen und die Erblichkeitsverhältnisse der „*Varietates albomarginatae hort,*" von *Pelargonium zonale*, Zeitschrift für induktive Abstamm.- u. Vererbungslehre **1**: 330—351, 1909.

16. BAUR E. — Untersuchungen über die Vererbung von Chromatophorenmerkmalen bei *Melandrium, Antirrhinum* und *Aquilegia*, Zeitschrift für induktive Abstamm.- u. Vererbungslehre 4: 82—102 1910.

17. CHITTENDEN R. J. — Studies in variegation II *Hydrangea* and *Pelargonium:* with notes on certain chimerical arrangements which involve sterility, journal of Genetics **16**: 43—61, 1926.

18. CORRENS C. — Vererbungsversuche mit blass (gelb) grünen und buntblättrigen, Sippen bei *Mirabilis Jalapa, Urtica pilulifera* und *Lunarea annua*, Zeitschrift für induktive Abstamm- u. Vererbungslehre **1**: 291—329, 1909.

19. CORRENS C. — Vererbungsversuche mit buntblättrigen Sippen, Sitzungsberichte der preuss. Akad. d. Wiss. Mathemat. Kl. **33**: 460—486, 1922.

20. GREGORY R. — On variegation in *Primula sinensis.* Journal of Genetics **4**: 305—321, 1915.

21. HONING J. A. — Erblichkeitsuntersungen and Tabak IV. Nicotiana colossea evanidotunicata, Genetica **9**: 11—18, 1927.

22. NOACK K. L. — Entwicklungsmechanische Studien an panaschierten Pelargonien, Jahrb. f. Wiss. Bot. **61**: 459—534, 1922.

2. ERFELIJKHEID VAN BLADVORM EN KWALITEIT.

ALGEMEENE BESCHOUWING OVER ERFELIJKHEID BIJ TABAK.

Alleen bladbreedte en kwaliteit zullen hier wat meer in het bijzonder onze aandacht hebben, omdat het veredelingswerk in de Vorstenlanden hoofdzakelijk op verbetering van deze eigenschappen is gericht. In de inleiding werd reeds vermeld, dat als een der hoofdwerkzaamheden aan ons Proefstation, getracht wordt dit te bereiken door kruising van locale rassen en selectie in de nakomelingschap hiervan en van terugkruisingen met een der ouders, teneinde door combinatie van goede erfelijke eigenschappen nieuwe waardevolle constante rassen te verkrijgen.

Reeds in het eindstadium verkeert thans het selectiewerk in de nakomelingschap van de kruising tusschen de Vorstenlandsche E en de KANARI, en van de meermalige terugkruisingen van deze z.g. EK met KANARI. Het doel en de voorloopige resultaten van deze kruising werden door d'ANGREMOND (*23, 24*) reeds uiteengezet, tevens een overzicht gevende van het principe van NILSSON EHLE (*34*), dat aan deze combinatieteelt ten grondslag ligt. Ten behoeve van een rationeele veredeling is het noodzakelijk kennis te nemen van de gewijzigde inzichten omtrent de erfelijkheidsverschijnselen van het gewas, waarmede men werkt en van de eigenschappen, waarop men selecteert door het uitzoeken van uiterlijk waarneembare gewenschte vormen. Hieronder zullen worden behandeld de gegevens door ons en door anderen verzameld, die, betrekking hebbende op het bovengenoemde, den grondslag vormen van ons hedendaagsche standpunt.

In de voorgaande paragraaf werd behandeld de in de plastiden gelocaliseerde erfelijke aanleg, welke, voor zoover onze kennis thans gaat, zich beperkt tot een gedeelte der bestudeerde erfelijke bontheidsgevallen bij verschillende planten. Voor de rest neemt men aan, dat de erfelijke aanleg hoofdzakelijk in de chromosomen gezeteld is en we kennen bij tabak ook inderdaad een groot aantal duidelijke gevallen van Mendelsplitsing.

De talrijke bekende gevallen van eenvoudige monohybride-splitsing bij mutanten kunnen hier als voorbeeld dienen. Hiervoor zij verwezen naar hoofdstuk 4 en 5.

Verder toonden SETCHELL, GOODSPEED en CLAUSEN (*35*) het bestaan aan van eenige mendelende factorenparen, welke betrekking hadden op bloemkleur, op bloemvorm en op kenmerken van den voet van het blad.

Dat, hoewel meerdere andere onderzoekers zich hebben bezig gehouden met tabakshybriden (EAST, HAYES, HONING, HOWARD e.a.), het aantal zuivere factorenanalyses toch nog betrekkelijk schaarsch is, moet worden toegeschreven aan den aard van de meeste voor de practijk van belang zijnde eigenschappen van tabak, die door hun kwantitatieve karakter het analyseeren zeer moeilijk maken. De onderscheiding tusschen kwantitatieve kenmerken en de veel eenvoudiger te analyseeren kwalitatieve eigenschappen, is zuiver kunstmatig en berust hoofdzakelijk op het factoren-complex en de grootere fluctuatie door uitwendige omstandigheden van de eersten.

SETCHELL, GOODSPEED en CLAUSEN (*35*, pag. 520) komen echter tot de volgende belangrijke conclusie: „All the differences between varieties of Tabacum can be analysed in a Mendelian fashion, if sufficient refinement in methodes be introduced".

Zij vestigen hierbij bijzondere aandacht op de z.g. „residual portions of the genotype", teneinde door eenvoudige opsplitsing in combinatie met een homozygoot factoren-residu, dat het gunstigst is voor bestudeering van de beschouwde eigenschap, te komen tot een scherp beeld en een juiste waarneming van de factorenverschillen, die de opsplitsing veroorzaken. Als voorbeeld worden aangehaald de factoren Rr die de roode kleur van de bloem beïnvloeden en zich het gemakkelijkst laten bestudeeren in combinatie met de factoren pp, omdat met PP verschillen in donker rood ontstaan, waardoor de invloed van RR, Rr en rr minder scherp is te onderscheiden. Om tot deze vereenvoudiging der factorenverschillen te geraken, moeten eerst homozygote lijnen geisoleerd en onderzocht worden of, wat vlugger tot het doel voert, de F_1 telkens teruggekruist worden met een der ouders tot duidelijke eenvoudige splitsing („clear-cut segregation") optreedt. Langs dezen weg konden genoemde onderzoekers bij sommige minder gecompliceerde kenmerken tot een factorenanalyse geraken. Voor kenmerken met te groote factorencomplexen echter wordt het aantal genotypisch verschillende lijnen zoo groot, dat de classificatie moeilijk, onzeker en practisch onuitvoerbaar wordt.

Veel gemakkelijker wordt dit, ook voor een zeer gecompliceerde eigenschap als bv. bladbreedte, bij de in onze KANARI-tabak kunstmatig en spontaan optredende mutanten, aangezien hierin meestal slechts factoren gewijzigd worden, die in éénzelfde chromosoom gekoppeld zijn. Doordat daarbij in sommige gevallen vormen ontstaan,

waarbij de gemuteerde bladbreedte aan een andere, gemakkelijk van de normale KANARI-plant te onderscheiden habitus gekoppeld is, en zich meestal als monohybride gedragen, ~~waardoor~~ het eenvoudiger wordt de werking van de bladbreedte-factor waar te nemen. Men kan dus bij mutanten sneller tot een factorenanalyse komen door de eenvoudige en duidelijke splitsing. Eenige dezer analyses betreffende bladbreedte worden in de volgende hoofdstukken nog vermeld.

Dat wij niettegenstaande het geringe aantal kwalitatief geanalyseerde factoren-verschillen, aannemen, dat de kwantitatieve eigenschappen zich eveneens volgens de Mendelwetten gedragen, is gebaseerd op de volgende ondervindingen en waarnemingen met tabakshybriden, welke door alle onderzoekers, die zich hiermede bezig hielden worden bevestigd: [1])

1e. Een constante en bijzonder uniforme F_1 generatie, waarvan de mate van variabiliteit niet grooter is dan die der ouders. Kleine afwijkingen van deze regel konden steeds worden teruggevoerd op de niet geheel homozygote conditie van een der ouders.

2e. De groote mate van variatie van opsplitsing in de F_2 generatie, waarbij dikwijls vormen ontstaan, die ver buiten de grenzen der ouder-eigenschappen vallen.

3e. De afnemende variatie in de F_3 en volgende generaties en de mogelijkheid bij verdere inteelt verschillende constante vormen te isoleeren, die anders dan, maar ook gelijk aan de ouders kunnen zijn.

Alvorens de ons ten dienste staande gegevens over bladvorm en kwaliteit in de verschillende generaties van een bastaard-nakomelingschap te noemen, moet eerst iets naders over deze eigenschappen en het herkennen daarvan worden medegedeeld.

BLADBREEDTE.

Dit is een der eigenschappen van tabak, die sterk onderhevig is aan uitwendige invloeden. Als men dus niet in staat is deze invloeden te nivelleeren, is het uiterst moeilijk juiste vergelijkingen te treffen en erfelijke verschillen aan te toonen. Ook de lengte van het blad is een erfelijke eigenschap, onafhankelijk van de breedte, die echter blijkt in ongeveer dezelfde mate afhankelijk te zijn van uitwendige omstandigheden als de breedte, zoodat de verhouding lengte : breedte minder afhankelijk is van de omstandigheden. Wij hebben dus door de breedte uit te drukken in procenten van de lengte, een uitstekende maat ter beoordeeling van selectieresultaten. Op deze wijze zijn wij in staat, ook in den drogen tijd, in een z.g. vooraanplant, op een goeden bladvorm te selecteeren, terwijl de weersomstandigheden de bladont-

SETCHELL, GOODSPEED en CLAUSEN (*35*, pag. 490) zeggen: „Although the behavior is complex, in every feature it parallels the Mendelian expectation for complex factor relations".

wikkeling zeer belemmeren en sterk afhankelijk doen zijn van kleine vocht-verschillen in den grond. (De aantrekkelijke ronde bladvorm van 113/'29 V. A. (E 3 K) werd in den drogen tijd geisoleerd).

Ook door andere kenmerken na te gaan, zooals de plaats van de grootste breedte, de mate van inkerving van den top en van den voet van het blad, het al of niet geoord zijn, enz., eigenschappen die volgens HOWARD (*29*) e. a. erfelijk onafhankelijk van elkaar zijn, kan men den bladvorm nader definieeren. Daar onze Vorstenlandsche tabak voor deze kenmerken echter betrekkelijk raszuiver is, blijven ze hier buiten beschouwing.

Dat bladlengte en bladbreedte van een zuivere lijn in ongeveer dezelfde mate afhankelijk zijn van uitwendige omstandigheden, werd door meerdere menschen aangetoond. LODEWIJKS (*33*) stelde dit correlatie-verband vast voor eenige geisoleerde lijnen (E_1, G_2, Y_{40}) en ook JENSEN (*30*, pag. 90) vond het bij KANARI-tabak. Van een zuivere KANARI-lijn werden de metingen in 1929 verricht nog eens in een correlatie tabelletje opgenomen, waaruit dit verband ten duidelijkste blijkt.

Lengte

	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50 cm
15	—	1																
16	1	—	—	2	—	1												
17		2	1	3	1	1	1	—	2									
18				4	3	5	5	3	—	—	2							
19				2	5	2	5	7	5	2	2	2						
20					1	1	6	12	8	6	5	3	2	1				
21							3	5	11	12	11	5	5	2				
22								1	5	5	9	8	9	2	3	1		
23									1	1	5	7	3	9	5	—		
24										1	—	—	2	8	5	2	1	
25													2	3	4	3	5	1
26														1	1	—	1	—
27 cm																1	1	—

Ook van in Connecticut aangeplante rassen als BROADLEAF HAVANA, SUMATRA en CUBAN zegt HAYES (*26*, pag. 26); „there is a distinct *plus* correlation between length and width of leaf i. e. the longer leaves were on the average also the broader ones."

Hoewel de verhouding breedte: lengte ook een weinig afhankelijk is van weersomstandigheden toonde LODEWIJKS (*33*) aan, dat in twee achtereenvolgende jaren de verhouding tusschen de gemiddelde lengte : breedte percentages van twee verschillende zuivere lijnen, dezelfde was.

Het meten van de grootste lengte en breedte geschiedt met behulp van een meetplank, volgens model door JOCHEMS (*31*) aangegeven, waarop tegelijkertijd beide maten worden afgelezen.

Of men de metingen uitvoert aan groen blad of aan gefermenteerd blad is niet geheel onverschillig, aangezien door droging en fermentatie de breedte sterker afneemt dan de lengte, terwijl alle blaren niet onder dezelfde omstandigheden opdrogen, wat reeds verschil veroorzaakt. Dit bleek bij het op beide manieren gemeten blad van de EK × K vooraanplant 1929, dat met stoom gefermenteerd werd. Gemiddeld was de lengte : breedte verhouding van het gefermenteerde voetblad met 6.3 % afgenomen en in het middenblad met 4.2 %. Het voetblad nam bij deze tabak dus iets sterker in breedte af. HAYES (27) vond bij HAVANA tabak in Connecticut een afname van 10.4 % in de lengte en van 20.8 % in de breedte van het blad.

Bovendien dient het gefermenteerde blad voor nauwkeurige metingen eerst gestreken te worden, wat zeer tijdroovend is, terwijl men bij groen blad nog het voordeel heeft direct ter plaatse en op volgorde te kunnen meten zonder ontelbare etiketjes noodig te hebben. Men zal dus de voorkeur geven aan het meten van groen blad.

Voor het verzamelen van nauwkeurig vergelijkbaar materiaal is het van groot belang, dat de metingen plaats hebben aan morphologisch gelijkwaardige organen van planten, die in hetzelfde ontwikkelingstadium verkeeren. Dit laatste is het gemakkelijkst te beoordeelen op het moment, dat de eerste bloemen zich openen. Verder volgen wij hierbij de methodiek van LODEWIJKS (*33*), door van deze planten het aantal blaren te tellen en alleen vijf blaren te meten, waarvan het middelste als volgnummer heeft 2/3 van het totaal aantal blaren. Als No. 1 wordt het hoogste blad genomen, in de oksel waarvan nog een uitlooper met twee blaadjes voorkomt. Heeft zoo'n uitlooper meer blaadjes dan wordt het blad daarboven als No. 1 genomen. In het bovengenoemde ontwikkelings-

stadium groeien de vijf te meten bladen nog maar weinig meer uit.

LODEWIJKS (*33*) heeft uitgemaakt, dat de gemiddelden van deze vijf blaren even betrouwbaar zijn als de gemiddelden van alle blaren.

KWALITEIT.

Onder kwaliteit verstaan wij een groot aantal eigenschappen van het gefermenteerde blad, die weliswaar afzonderlijk beschouwd kunnen worden, maar onderling met elkaar in verband staan en voor de practijk van groote beteekenis worden geacht. Deze eigenschappen hebben betrekking op dikte, soepelheid en gladheid van het blad, verder op de kleur (vaal, of bruin, egaal of gevlekt, licht of donker), terwijl de geur, smaak, brandbaarheid en aschkleur er nog bij genoemd kunnen worden. Het is duidelijk, dat van iedere plant apart met zekerheid van elk dezer kenmerken niet veel te zeggen valt, aangezien hierop uitwendige omstandigheden (vooral regen) een nog grooteren invloed hebben dan op de bladbreedte, terwijl de wijze van drogen en fermenteeren een belangrijke rol speelt.

De ideale Vorstenlandsche tabak voldoet aan bepaalde eischen, die de markt er aan stelt en zoolang de wenschen der sigarenfabrikanten en de mode en de smaak der sigarenrookers zich niet wijzigen, blijft ook de markt in haar verlangens conservatief, vandaar, dat de tabakker over het algemeen zeer bang is voor verandering van het type. Wat dan ook de planters *beter* vinden, wordt dikwijls door de markt veroordeeld, omdat het klaarblijkelijk *anders* is. De veredeling van onze tabak is daarom wat betreft de kwaliteit, niet zoo zeer gericht op *verbetering*, dan wel op *vermeerdering* van het bestaande superieure assortiment.

d'ANGREMOND (*23*) wees hierop reeds als doelstelling van de kruising tusschen E en KANARI.

Om met eenige zekerheid tot een positieve selectie te geraken moet men alleen voortwerken met nakomelingen van die planten, waarvan zooveel mogelijk *alle* beoordeelde blaren de gewenschte goede eigenschappen vertoonen. Door het gecompliceerde en variabele karakter van deze eigenschap en het ongetwijfeld zeer groote aantal erffactoren dat hiervoor aansprakelijk is, wordt een factorenanalyse en een nauwkeurig onderzoek naar de erfelijkheid uitgesloten. Alleen met behulp van goed opgezette veldproeven is het mogelijk het resultaat van de selectie na te gaan en te controleeren. Men kan hierbij grootere hoeveelheden tabak sorteeren en de verschillen in percentages der belangrijke kwaliteits- en kleureigenschappen tot uitdrukking brengen. Uiteraard

is men hierbij gebonden aan een voor vakkenproeven gelimiteerd aantal vergelijkingen.

De resultaten van vele varieteiten- en selectie-proeven schenken ons de overtuiging dat men ook bij kwaliteitseigenschappen met Mendelende kenmerken te maken heeft.

WAARNEMINGEN OVER BLADBREEDTE EN KWALITEIT IN EEN KRUISINGSNAKOMELINGSCHAP.

Ter bepaling van ons gedrag bij de selectie in de verschillende generaties, had van de hierboven, in drie hoofdpunten genoemde algemeene verschijnselen onze bijzondere aandacht:

1e. Het intermediaire, dominante of recessieve karakter van de F_1-generatie.

2e. De mate van en de eventueele transgressieve variatie in de F_2- en volgende generaties.

3e. Het aantal generaties, waarna in stamboomcultuur raszuiverheid wordt verwacht.

DE F_1-GENERATIE.

In het algemeen wordt bij tabak geconstateerd, dat de F_1-generatie een intermediair uiterlijk tusschen de twee ouders vertoont. Ook wat de bladbreedte betreft, wordt over 't algemeen bij de gewone Vorstenlandsche rassen hierop geen uitzondering gemaakt. Van de kwaliteit valt met zekerheid niets te zeggen.

Naarmate een eigenschap door uitwendige omstandigheden makkelijker modificeerbaar blijkt, zal ook verwacht kunnen worden, dat talrijker genenfactoren er invloed op kunnen hebben. Zoo zullen genen, die de wortelgroei, chlorophylsamenstelling of dwergeigenschap bepalen, indirect den bladvorm treffen. Om deze reden, kunnen wij verwachten, dat de bladvorm door tallooze factoren wordt bepaald.

Van belang is nu, dat bij de in KANARI-tabak gevonden mutanten uitzonderingen optreden, waarbij zoowel *dominante*, *intermediaire*, als *recessieve breedbladigheid* kan worden vastgesteld. Zooals in de volgende hoofdstukken uitvoeriger besproken wordt, geldt het hier meestal eenvoudige monofactorieele splitsingen, zoodat wij eigenlijk niet meer te maken hebben met een kwantitatieve eigenschap in de conventioneele beteekenis van het woord. Ook is ons een geval van breedbladige dubbelbloemige bifactorieele mutatie bekend, waar één recessieve en één dominante factor de bladbreedte beïnvloeden (zie

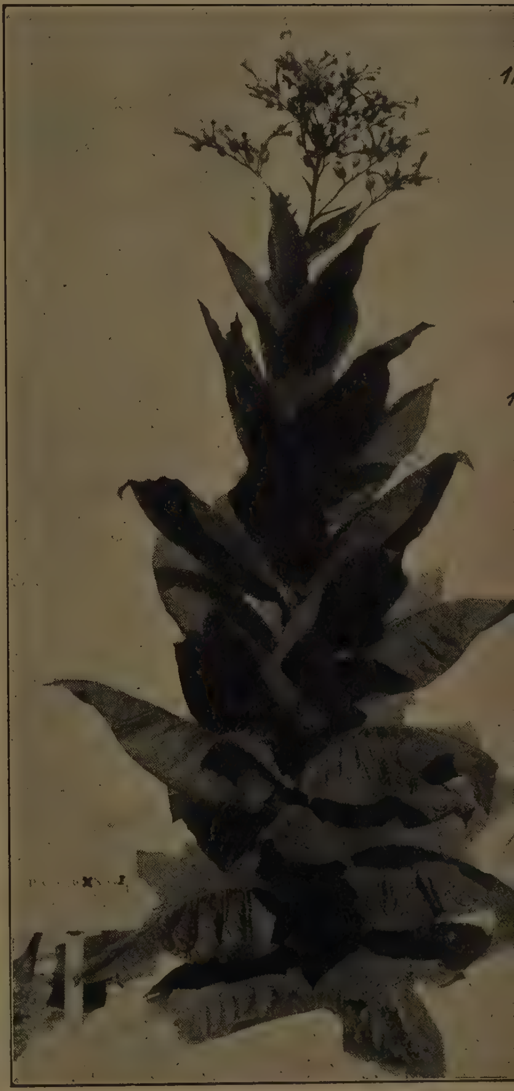

Foto 6 en 7. De dwergboom, een spontane mutatie uit Y_{10} (links) en rechts de intermediaire dwergboom × Kanari Kanari, zie foto 2).

The dwergboom-variety a natural mutation, (left) and the mediate F_1 of dwergboom × Kanari (right).

Foto 8. Middenblad van de E (grof) en Kanari (fijner blad), vergeleken met de tot deze 13e generatie op kwaliteit en breedte doorgeselecteerde kruising E × Kanari (ook fijner blad).

Middle-leaf of E- and Kanari- variety and the F_{13} of E × Kanari after continued selection on quality and leafform.

Hoofdstuk 5). Hieruit leiden wij af dat het intermediaire karakter van polyhybriden dus blijkbaar in verband staat met het groote aantal heterozygote factorenparen. Hiermee in overeenstemming is de ondervinding, dat veelal bij kwantitatieve kenmerken een intermediaire F_1 optreedt. GOLDSCHMIDT (25, pag. 155) o.a. zegt hiervan: „Ganz besonders häufig findet sich dies rein intermediäre Verhalten aber bei meristischen merkmalen, also solchen die Gröszenverhaltnisse betreffen".

Het laat zich dus denken, dat de intermediaire polyhybride F_1 is te beschouwen als een resultante van vele factoren, die deels dominant, deels intermediair en deels recessief zijn.

Het in 1922 door HAYES (26, pag. 29) als volgt geformuleerde standpunt: „in order to have the hypothesis fit the facts for inheritance of fluctuating plant-characters, is to suppose the heterozygous condition for each character to be only half the homozygous condition. Thus the F_1 condition for any character is a blend between the parent types, instead of being like one or the other parent forms as is the case where complete dominance is the rule", is dus niet volledig meer te aanvaarden, aangezien wij nu weten, dat het altijd opgaan van dezen regel slechts te verwachten is bij sterk polyhybride F_1-generaties.

De consequentie hiervan voor onze practische kruisingsteelt is de noodzakelijkheid om, voor elke kruising tusschen twee genetisch onbekende rassen, uit te maken of de factorenverschillen op intermediaire, dominante of recessieve breedbladigheid neerkomen en dit wordt te noodzakelijker naarmate men vormen, die in betrekkelijk weinig factoren verschillen, met elkaar kruist. Dit is het geval bij de herhaaldelijk met KANARI teruggekruiste EK. Dat wij hier langzamerhand in de bladvorm met vereenvoudigde Mendelsplitsing te maken krijgen blijkt o. a. uit het groote gemak, waarmee bijvoorbeeld de hinderlijke gebobbelde bladrand (foto 19) uit de afstammelingen van E 3 K 113/'29 V. A. is weg te selecteeren.

Van de kruisingen tusschen KANARI en respectievelijk E en Deli, volgt hieronder een overzicht van de gemiddelde bladafmetingen der ouders en F_1-hybriden (Tabel 6).

Met uitzondering van de DELI en DELI × KANARI F_1, werden de objecten in afwisselende rijen uitgeplant, ter nivelleering van grondverschillen. Ook DWERGBOOM en DWERGBOOM × KANARI F_1 werden gemeten, om de, voor onderzoek over bladbreedte, ideale bladvorm van den DWERGBOOM. Hierbij dient te worden opgemerkt dat de DWERGBOOM × KANARI F_1 niet geheel uniform is, als gevolg van terugmuteeren van den DWERGBOOM, die bij zelfbevruchting voor ongeveer 1 % DWERGBOOM-Y_{10} geeft.

TABEL 6.

Ouders en F_1-hybriden	Gem. bladbreedte in cm	Gem. bladlengte in cm	Verhouding 100. breedte: lengte (aantal metingen)
E	28.8 ± 0.18	51.3 ± 0.21	56.1 ± 0.35 (730)
E ♀ × KANARI ♂ F_1	27.— ± 0 16	50.6 ± 0.20	53.4 ± 0.32 (770)
KANARI	25.8 ± 0.14	50.8 ± 0.17	50.8 ± 0.28 (755)
DWERGBOOM ♀ × KANARI ♂ F_1	26.7 ± 0.17	47.1 ± 0.23	56.7 ± 0.36 (810)
DWERGBOOM	24.9 ± 0.14	41.6 ± 0.22	59.9 ± 0.34 (835)
DELI	26.9 ± 0.17	42.1 ± 0.21	63.9 ± 0.40 (725)
DELI ♀ × KANARI ♂ F_1	28.2 ± 0.19	51.1 ± 0.23	55.2 ± 0.37 (605)
KANARI	24.7 ± 0.19	52.— ± 0.28	47.5 ± 0.36 (615)
KANARI ♀ × DELI ♂ F_1	28.4 ± 0.18	50.4 ± 0.21	56.3 ± 0.36 (630)

Volledigheidshalve kan nog vermeld worden het resultaat van door LANG (*32*) aan helaas wel erg weinig planten en blaren uitgevoerde metingen. Hij komt in sommige gevallen tot een F_1, die in bladbreedte sterk op de moederplant gelijkt, terwijl de bladvoet een meer intermediair karakter heeft. In een ander geval vindt hij een F_1, die breeder is dan beide ouders. In verband hiermee zij opgemerkt, dat dit *heterosis* verschijnsel bij tabak meerdere malen is opgemerkt o.a. door JENSEN (*30*, pag. 115) bij de KANARI × Deli kruising, waarbij het verschijnsel echter jaar op jaar minder werd. Voor de verklaring hiervan kan naar de handboeken worden verwezen.

DE F_2- EN VOLGENDE GENERATIES.

Het meest opvallende verschijnsel bij tabakshybriden is de zeer groote variabiliteit in de F_2- generatie. JENSEN (*30*, pag. 133) die een volslagen wanorde vond in de F_2 opsplitsing van een kruising tusschen PERU en WHITE-BURLEY tabak, noemt het met NAUDIN een „variabilité desordonnée". Ook SETCHELL, GOODSPEED en CLAUSEN (*35*, pag. 462) zeggen van een F_2- generatie, dat deze in het begin „hopeless in its variety of segregation" leek, waardoor het onmogelijk werd de typen accuraat te classificeeren.

Daar wij met DWERGBOOM- en DELI-kruisingen geen ondervindingen hebben in verdere generaties, wordt hier alleen de EK-nakomelingschap in beschouwing genomen, waarin reeds selectie tot F_{15} plaats heeft gehad.

Daar de beide ouders E en KANARI genotypisch betrekkelijk nauw verwant zijn is variatie in bladbreedte van de EK F_2 niet zoo opvallend als wel waargenomen kan worden bij kruising van ver van elkaar verwijderde genotypen.

Van in 1930 gemeten F_1 en F_2 aanplanten berekenden wij de middelbare fout in procenten van het gemiddelde breedte: lengte percentage. De op deze wijze verkregen variatie-coëfficiënten bedroegen respectievelijk voor de F_1 7.43 en voor de F_2 9.62, waaruit de grootere variatie van deze EK F_2 wel valt af te leiden, hetgeen ook op het veld reeds duidelijk was waar te nemen.

Aangaande de kwaliteit zijn geen nauwkeurige gegevens te verzamelen.

Van grooter belang is de *transgressieve opsplitsing* bij tabak. In principe voert transgressiesplitsing als een typisch combinatieverschijnsel twee kanten uit. Door de positieve selectie echter ontsnappen de negatieve slechte transgressies, die voor ons ook van geen belang zijn, aan onze aandacht.

Dat in de EK nakomelingschap positieve transgressies optreden is bij de selectie duidelijk gebleken. (Foto 8).

HET AANTAL VERSCHILLENDE FACTOREN-PAREN.

In verband met de vraag na hoeveel generaties in stamboomcultuur constante rassen zijn te verwachten is het *aantal* genen van beteekenis. Wij moeten aannemen, dat in de bladkwaliteit, die zoowel door kleine chemische (brandbaarheid, geur), morphologische (dikte) als anatomische (kleur, fijnheid) verschillen wordt beïnvloed wel haast elk genetisch factoren-verschil tot uitdrukking zal komen, zoodat het à priori waarschijnlijk is, dat voor kwaliteit belangrijk meer factoren aansprakelijk zijn dan voor bladbreedte. Dit wordt verder aannemelijk gemaakt door een feit, dat men bij kruisingsteelt in tabak steeds moet ondervinden:

1e. dat het gemakkelijk is om planten te kweeken met blaren van een zeker mooi model, maar uiterst moeilijk om planten te krijgen met blaren van een bepaalde goede kwaliteit;

2e. dat bij voortgezette inteelt raszuiverheid in den bladvorm veel spoediger wordt bereikt dan een constante kwaliteit.

d'ANGREMOND was in de gelegenheid tijdens zijn langdurige kruisingswerkzaamheden in de Vorstenlanden deze ervaring op te doen. Daar voor bladbreedte reeds een groot aantal factoren bestaat, beteekende dit voor de practijk, dat bij kruising van in genetische samenstelling te ver van elkaar verwijderde rassen, de heterozygote afstammelingen zoo gecompliceerd waren, dat zelden een plant kon

worden aangetroffen die de gewenschte combinatie van kwaliteitseigenschappen vertoonde.

Ook HAYES, EAST en BEINHART (*28*, pag. 63) kwamen in Connecticut tot de conclusie, dat: „a good quality of leaf can more generally be expected in a hybrid, if the parents are both of high quality, than if one parent is a good variety and the other somewhat lacking."

Dit was de reden waarom d'ANGREMOND overging tot kruising van locale rassen i.c. de E met de KANARI.

Voor verdere practische consequenties zij verwezen naar het hoofdstuk over de richtlijnen voor de veredeling. Wat het aantal generaties betreft, waarna men in stamboomcultuur overwegend homozygotie kan verwachten, werd in de EK-nakomelingschap de ervaring opgedaan dat breedbladigheid vrij spoedig constant is en na de F_{10} geen opsplitsing meer te zien geeft.

Door het veel gecompliceerder karakter van de kwaliteit kan men in F_{10} nog een vrij groot percentage heterozygoten hiervan verwachten. Het is echter moeilijk om opsplitsing in de kwaliteit met eenige nauwkeurigheid vast te stellen. Tallooze veldproeven met selectienummers van één moeder stammende geven echter aanwijzingen, dat in F_{10} nog een zeker percentage heterozygoten voorkomt.

Een der gevallen waarbij in de F_{11} nog verschillen grooter dan driemaal de middelbare fout gevonden werden, kwam voor op de onderneming PANDAN SIEMPING in 1928. Drie dochters F_{11}, afstammende van EK 1132/'27 V. A. F_{10}, gaven onderling in het hoog-voetblad de volgende reëele verschillen in de sortatie op heldere (lichte) tabak:

4243/1927 — 4244/1927 = — 14.5 ± 4.3 % helder
4243/1927 — 4245/1927 = — 13.1 ± 4.2 % helder

Een duidelijke opsplitsing dus nog in F_{11}, waarbij 4243/1927 een beslist donkerder type tabak gaf dan de beide zusters.

Met EAST en JONES neemt men over het algemeen aan, dat in de F_{10} bij inteelt van zelfbevruchters homozygotie dermate overweegt, dat constante lijnen zijn verkregen. Bij tabaks-kwaliteit moeten we hierop echter niet rekenen, daar het factoren-complex blijkbaar zoo groot is, dat voor volledige homozygotie nog meerdere zelfbestuivingen noodig zijn.

LITERATUUR.

23. d'ANGREMOND A. Selectietuinen, Jaarverslag 1 Mei 1926—30 April 1928 Med. Proefstation v. Vorstenl. Tabak **61**: 6—50, 1928.

24. d'ANGREMOND A. Verslag van een studiereis naar Svalöf in Zweden, Med. Proefstation v. Vorstenl. Tabak **61**: 135—143, 1928.

25. GOLDSCHMIDT R. Einführung in die Vererbungswissenschaft, Berlin, 1928.
26. HAYES H K. Correlation and inheritance in Nicotiana Tabacum, Conn. Agric. Exp. Station, Bull, 171: 1—45, 1912.
27. HAYES H. K. The Shrinkage of Tobacco leaves in curing and fermentation, Conn. Agric. Exp. Station, Report Plant Breeder 6: 390, 1913.
28. HAYES H. K., EAST E. M. & BEINTHART E. G. Tobacco breeding in Connecticut, Conn. Agric. Exp. Station, Bull. 176: 1—68, 1913.

29. HOWARD GABRIELLE L. C. Studies in Indian tobaccos No. 3, The inheritance of characters in Nicotiana Tabacum, Mem. India Dept. Agric. Bot. 6: 25—144, 1913.
30. JENSEN Hj. Onderzoekingen over tabak der Vorstenlanden, Med. Proefst. v. Vorstenl. Tabak 5: 79—134, 1913.
31. JOCHEMS S. C. J. Onderlinge vergelijking van de voornaamste typen van Delitabak, Med. Deli Proefstation 25; 6—11, 1913.
32. LANG H. Messungen an Tabakblättern Zeitschr. für Pflanzenzüchtung 1; 287—301, 1913.
33. LODEWIJKS J. A. Erblichkeitsversuche mit Tabak II, Zeitschr. für indukt. Abstamm. u. Vererbungslehre 5: 285—323, 1911.
34. NILSSON-EHLE H. Rassen kreuzungen aus allgemein biologischem Gesichspunkt, Genetica 11; 213—225, 1929.
35. SETCHELL W. A., GOODSPEED T. H. and CLAUSEN R. E. Inheritance in Nicotiana Tabacum I. A report on the results of crossing certain varieties, Univ. Calif. Publ. Bol. 5: 457—482, 1922.

IV. SPONTANE MUTATIES BIJ TABAK.

Om een vergelijking te kunnen maken met den aard der experimenteel opgewekte mutaties, die in het volgende hoofdstuk zullen worden besproken, hebben we de in de literatuur vermelde gevallen bij tabak critisch nagegaan en zelf nog eens eenige spontane mutanten genetisch in studie genomen.

1. DEFINITIE VAN MUTATIE EN HAAR CONSEQUENTIES.

Onder mutatie pleegt men meestal te verstaan een plotselinge verandering der erfelijke eigenschappen, voor zoover deze niet op een nieuwe genencombinatie door kruising (en overkruising) berust. Treffen wij een *nieuwe* en in zekere mate *erfelijke* eigenschap aan in een plant, in welks voorouders deze eigenschap niet voorkwam dan zullen wij dus van mutatie spreken, wanneer dit tenminste niet een gevolg kan wezen van nieuwe genencombinatie. Om de mogelijkheid van dit laatste volkomen buiten te sluiten (dus ook eventueele overkruising), moet de ouder homozygoot zijn geweest.

Wanneer wij plastiden- en plasma-mutaties buiten beschouwing laten, zoo komt mutatie meestal neer op een verandering in één of meer chromosomen (factorieele mutatie) dan wel een verandering in de chromosomen-garnituur (haploïde en polyploïde mutaties, zoomede uitval of toevoeging van één of meer chromosomen of deelen van chromosomen).

Uitgaande van deze definitie, moeten wij de volgende voorwaarden stellen, om in een bepaald geval te kunnen besluiten tot een mutatie:

1e) We moeten het ras en eigenlijk liefst de ouders, waaruit de mutant stamde uit meerdere generaties stamboom-cultuur kennen, om zeker te zijn, dat de gemuteerde eigenschap inderdaad geen bastaardsplitsing voorstelt;

2e) We moeten door middel van nakomelingen-beoordeeling de *erfelijkheid* aantoonen, anders zou de nieuwe eigenschap ook het directe gevolg van omstandigheden (modificatie) of ziekte kunnen wezen.

Er zijn echter gevallen denkbaar, waar de mutant steriel is, óók bij reciproke kruising met andere rassen. In dat geval is een *zekere* conclusie niet mogelijk, tenzij de chromosomenverandering cytologisch is aan te toonen. We kunnen het mutatie-karakter dan min of meer waarschijnlijk maken door een bewijs uit het ongerijmde, namelijk door aan te toonen, dat het geen ziekte is (die zooals kroepoek met enting overgaat) en waarschijnlijk óók geen modificatie, waarvan (zooals bij tjakar) na wijziging der omstandigheden de kenmerken verdwijnen.

Wanneer wij het muteeren van een plantensoort langdurig hebben bestudeerd en bij herhaling treden dezelfde mutaties op, waarvan reeds talrijke malen de erfelijkheid is aangetoond, dan kan men bij latere gevallen uit analogie met een groote mate van zekerheid tot een mutatie concludeeren ook zònder opnieuw een erfelijkheidsonderzoek in te stellen. Bij Oenothera en Antirrhinum zal dit meermalen mogelijk kunnen zijn.

Bij onze Vorstenlandsche tabak is de *aurea*-vorm een herhaalde malen bestudeerde steeds dominante heterozygote mutatie, zoodat wij bij optreden hiervan ook zonder nakomelingenbeoordeeling uit analogie tot een overeenkomstig mutatie-geval kunnen besluiten.

Willen wij bij recessieve mutaties een oordeel uitspreken over de vraag of de mutatie als heterozygoot of als homozygoot ontstaan is, dan behoort nog aan een derde voorwaarde te worden voldaan:

3e) We moeten de ouders minstens 2 generaties vóór het eerste optreden in stamboomcultuur kennen.

Anders is het indien wij een homozygote recessieve mutatie aantreffen, ook mogelijk, dat deze reeds een generatie eerder als heterozygoot optrad, maar we haar als zijnde recessief niet herkenden.

Soms werd, zooals we zullen zien, aan deze elementaire voorwaarden niet voldaan en dan moeten wij ook aan de gemaakte conclusies elke waarde ontzeggen.

---

2. OVERZICHT DER ONS BEKENDE SPONTANE MUTATIES BIJ TABAK.

De uit de literatuur bekende, benevens de in Klaten bestudeerde doch niet gepubliceerde gevallen vatten wij in tabel 7, overzichtelijk samen.

TABEL 7. BESTUDEERDE SPONTANE MUTATIES BIJ TABAK.

Uiterlijk kenmerk der mutatie. Tabaksras	Auteur of onderzoeker	Aard der mutatie	Gemuteerde factor al of niet recessief ten opzichte oorspronkelijke factor	Ontstaan als één of meer homozygoten of hybriden
Veelbladigheid				
1. Y_{10}	LODEWIJK *(52)*	monofactorieel	intermediair	één hybride
2. Cuba	JONES *(50)*	monofactorieel	recessief	?
3. tabacum	ALLARD *(36)*	monofactorieel	recessief	?
Dwergvorm				
4. Deli-Kloempang	HONING *(49)*	monofactorieel	dominant	één hybride
5. Y_{10}	d'ANGREMOND	monofactorieel	intermediair	?
„Deformis"				
6. Deli	HONING *(48)*	monofactorieel	intermediair	één hybride
„Enlarged"				
7. angustifolia × macrophylla F_1 †	CLAUSEN & GOODSPEED *(43)*	(2 n + 1) type	—	—
Aurea				
8. Y_{10}, type 1	LODEWIJKS *(52)*	monofactorieel	intermediair	één hybride
9. Y_{10}, type 2	LODEWIJKS *(52)*	monofactorieel	intermediair	één hybride
10. Kanari	MIDDELBURG	monofactorieel	intermediair	één hybride
Apetala				
11. Virginica	KLEBS *(51)*	monofactorieel	intermediair	één hybride
Fasciatie				
12. Cuba	WHITE *(56)*	monofactorieel	intermediair	?
Pistilloïdie				
13. langsdorfii × alata F_1 †	WHITE *(55)*	monofactorieel	intermediair	één homozygoot
Calycanthemie				
14. fructicosae hybride †	WHITE *(54)*	monofactorieel	intermediair	één homozygoot
Catacorolla (Dubbelbloem)				
15. Y_{10}	LODEWIJKS *(52)*	monofactorieel	recessief	?
16. E 2 K F_6	TOLLENAAR	monofactorieel	recessief	één hybride
17. Kedoe; lijn A	ARISZ *(39)*	monofactorieel	recessief	?
18. Kedoe; lijn C	ARISZ *(39)*	monofactorieel	recessief	één hybride
Catacorolla met breed blad				
19. A 40	MIDDELBURG & TOLLENAAR	bifactorieel	dominant en recessief	één hybride

OPMERKINGEN.

De met † aangegeven gevallen zijn hybriden, zoodat dit niet volkomen zekere gevallen van mutaties voorstellen. Daar de ouders der F_1-vormen echter homozygoot waren en onder het intermediaire F_1-type slechts één enkele erfelijk-afwijkende vorm voorkwam is het wel waarschijnlijk, dat we hier met mutatie te doen hebben.

MISS RUTTLE (*53*) en CLAUSEN & MANN (*44*) vonden bovendien nog eenige andere haploide vormen, echter alle in F_1 's van kruisingen.

VEELBLADIGHEID.

In het door LODEWIJKS vermelde geval gelukte het niet de ongeveer voor 1/4 deel „doorschieters" in bloei te krijgen en dus te bewijzen, dat deze zuiver voortkweekten. In een ander geval kon echter bewezen worden, dat zij uitsluitend „doorschieters" in de nakomelingen opleverden.

Op het door HAYES en JONES bestudeerde geval komen we nog nader terug.

AUREA'S.

Alle drie gevallen komen in zooverre met elkaar overeen, dat zij evenals de *aurea*-vorm bij Antirrhinum volgens BAUR (*40*) slechts in heterozygoten toestand bestaanbaar zijn.

Bovendien geven dan ook nog de verhoudingsgetallen afwijkingen van wat theoretisch verwacht kon worden. Dit is echter waarschijnlijk aan gedeeltelijke steriliteitsverschijnselen toe te schrijven.

Bij zelfbestuiving verkreeg LODEWIJKS bij zijn „erste *aurea*-Sippe" 75% *aurea*'s, bij zijn „zweite *aurea*-Sippe" 35½%, 40%, 32½% *aurea*'s in drie opvolgende generaties.

Bij onze *aurea*-mutatie uit KANARI kregen wij slechts 24.3% *aurea*'s in de tweede generatie.

De door ALLARD (*37*) beschreven *aurea*-vorm in rustica-kruisingen wijkt waarschijnlijk geheel van onze *aurea*-typen af.

DUBBELBLOEMIGHEID.

In de stamboomselectie van een E 2 K F_6 kwam een mooie plant voor, die bij selectie werd uitgezocht. In de nakomelingen bleek deze voor ongeveer een kwart de gewone dubbelbloem af te splitsen (102 van de 447 dus ± 23%). Hiermede was het muteeren dezer dubbelbloemigheid als hybride bewezen.

In den ondernemingsaanplant vinden wij ook dikwijls meerdere dubbelbloemigen in elkaars buurt. Waarschijnlijk stellen deze niet

afzonderlijke mutaties voor, doch nakomelingen van één in den vorigen aanplant uitgezochte *recessieve* heterozygote dubbelbloemige mutant.

De analyse door ARISZ (*38, 39*) van de dubbelbloemigheid der Kedoe. B- en D- lijn werd niet voltooid.

BIFACTORIEELE MUTATIE.

Bij een A 40 op KEBON AROEM vond één onzer een aanplant, waarin talrijke afwijkende planten stonden, waarvan voor een grootbloemig type de erfelijkheid en dus het mutatie-karakter kon worden bewezen. Ook bevond zich daar een eigenaardige vrij breedbladige plant, waarvan de bloeiwijze zich kenmerkte door het afwerpen vóór opening van de meeste bloemknoppen, terwijl aan de corolla kleine aanhangsels konden worden opgemerkt. Enkele vruchten zetten zaad en de analyse in de volgende generaties leerde, dat wij met een bifactorieele mutatie te doen hadden. Elders zullen wij dit geval misschien nog wel eens uitgebreider beschrijven, zoodat wij hier thans met de volgende hoofdfeiten kunnen volstaan.

Het geval laat zich geheel verklaren, wanneer wij aannemen, dat de aangetroffen plant voorgesteld kan worden met $A\alpha$ $B\beta$, waarin voorstellen: α de factor voor dubbelbloemigheid, smal blad met aanhangsels en met lijsten aan den stam.

A de factor voor gewone enkelbloemigheid, normaal blad (A 40-type).

B een factor voor zeer breed, dun, eenigszins mozaiekachtig gevlekt blad.

β de factor voor gewoon A 40-type blad.

B domineert over β; A over α, hoewel niet volledig, daar de hybride $A\alpha$ van AA te onderscheiden is door iets smaller blad dan de A *40*, sporadische bladaanhangsels, aanleg voor lijsten langs den stengel, soms kleine aanhangsels aan de corolla en neiging tot bloemknopabscissie (beide laatste eigenschappen werden ook door ARISZ bij sommige dubbelbloemige hybriden waargenomen). Zie de foto's 9, 10 en 20.

We hebben hier dus een geval, waarin één factor een dominante, de andere factor een recessieve mutatie voorstelde.

Het is niet onwaarschijnlijk, dat deze bifactorieele mutant ontstond door bevruchting van een in één factor gemuteerde eicel met een in één factor gemuteerd pollenkorrel. Het zal namelijk wel niet toevallig zijn, dat het eenige bekende geval van bifactorieele mutatie optrad in een zaaisel, waar veel mutanten voorkwamen, m.a.w. procentisch blijkbaar een groot percentage der ouderlijke geslachtscellen gemuteerd zal zijn geweest.

Foto 9. Uit een spontane bifactorieele mutatie geisoleerde breed- en dunbladige lijn.

Strain with broad leaf, isolated from a bifactorial natural mutation.

Foto 10. Dubbelbloemige lijn (gecorreleerd met bladproliferaties, zig-zaggende stengel met lijsten, getordeerde bladsteelen), geisoleerd uit dezelfde bifactorieele spontane mutatie.

Double-flowered strain isolated from the same bifactorial natural mutation.

Foto 11. Spontane steriele mutant in de E met zeer smalle, plaatselijk verdikte bladen.

Natural sterile mutation in the E- strain with narrow leaves and flower-abscission.

Foto 12. Spontane mutant in de Kanari met eigenaardige gezwellen.

Natural mutation in the Kanari-strain, with tumours.

Wij zien dus, *dat bij de spontane mutaties mono-factorieele mutaties het algemeenst zijn, dat deze zoowel recessief, intermediair als dominant kunnen wezen, terwijl in de meeste gevallen de mutant als hybride ontstaat.*

---

3. TERUGMUTATIE.

Theoretisch is het van belang om te weten of het mutatieproces omkeerbaar is. Inderdaad zijn ons hier twee gevallen van bekend.

In een Vorstenlandsche dubbelbloemige lijn troffen wij in 1930 twee KANARI-achtige planten aan.

Wij willen er hierbij op wijzen, dat menging met ander zaad uitgesloten is te achten. De uitzaai heeft steeds plaats in zaai-bakken, die in water staan, zoodat mieren er niet bij kunnen. In deze bakken wordt met stoom gesteriliseerden grond gebruikt, die voor den uitzaai vochtig wordt gemaakt, om eventueele zaden nog vooraf te doen ontkiemen, hetgeen ons op onvoldoende sterilisatie opmerkzaam zou maken. Zijn de planten voldoende groot, dan worden zij op kweekbedden overgeplant.

De „DWERGBOOM", die uit de Y_{10} muteerde, geeft bij uitzaai voor ongeveer één percent terugmutaties in den vorm van DWERGBOOM $\times$ Y_{10}-hybriden, die de verwachte opsplitsing te zien geven.

De terugmutatie geschiedt hier dus als hybride.

---

4. STERIELE MUTANTEN.

Wij vermoeden het mutatie-karakter dezer vormen, omdat zij geen ziekten en ook geen modificaties voorstellen.

Een nogal eens voorkomend geval is een type, dat een massa blaadjes vormt en nooit generatieve organen. Een ander geval is dit jaar aangetroffen op Djoewiring (foto 12) met zeer eigenaardige knobbels en verdikkingen. Er werden wel bloemknoppen gevormd, die echter afvielen vóór bevruchting kon geschieden.

Een derde geval troffen wij aan in een uitzaai in 1930 van LODEWIJKS' E-lijn. Onder een paar honderd E-planten vonden wij daarin niet minder dan drie *aurea*-mutanten, benevens een zeer afwijkend tabakstype met abnormale lijnvormige bladen. De bladen van dit laatste type (foto 11) vertoonden eigenaardige verdikkingen, en „beschadigingen" van de bladranden. De bloemen vielen af vóór ze openden, zoodat geen zaad verkregen kon worden.

Deze gevallen, die waarschijnlijk wel een soort van spontane mutaties voorstellen, geven abnormale monstruositeiten naast steriliteit te zien en vertoonen overeenkomst met de door FRL. STEIN (*76, 77*) door radiumbestraling opgewekte z.g. „radiomorphose mutanten" in Antirrhinum.

---

5. HET TIJDSTIP VAN MUTEEREN.

Men zou zich à priori kunnen voorstellen, dat factor-mutatie kan plaats hebben gedurende de vegetatieve en gedurende de generatieve phase der tabaksplant (dus als diplont en als haplont).

Wanneer in de vegetatieve periode een dominante of intermediaire mutatie zou plaats vinden, dan moest deze als knopmutatie opvallen. Noch in de Vorstenlanden, noch uit de literatuur is ons echter een duidelijk geval van knopmutatie bij tabak bekend. Slechts één geval wordt door CLAUSEN en GOODSPEED (*42*) in een F_1 eener kruising beschreven. De nakomelingen der beide verschillende spruiten gaven echter geen erfelijke verschillen te zien, hetgeen getracht werd te verklaren door aan te nemen, dat alleen de epidermis gemuteerd was, m.a.w. een chimaer ontstaan was. Hoewel tallooze dominante en intermediaire mutaties bij tabak bekend zijn, is hieronder geen enkele, die een duidelijk geval van knopmutatie voorstelt. Als we nu niet aannemen, dat juist alle knopmutaties als *recessieve* hybriden ontstaan, voor welke aanname geen enkele bijzondere reden bestaat, dan moeten wij wel besluiten, dat het muteeren meestal in een andere periode gebeurt. Dus hetzij in de geslachtscellen, hetzij kort voor de reductiedeeling, n.l. in de initiaalcellen der subepidermale laag van vruchtblad en (of) anthere, hetzij kort na de bevruchting (als embryo), in welke twee laatste gevallen uiterlijk ook wel niets bijzonders opgemerkt zou worden.

Uit de nakomelingen-beoordeeling in stamboomcultuur zal het soms mogelijk wezen een keuze te doen tusschen de eerste en de beide laatst genoemde mogelijkheden.

Immers, waar muteeren een relatief zoo uiterst zeldzaam verschijnsel is, lijkt het hoogst onwaarschijnlijk, dat dit meer dan eenmaal in een geslachtscel éëner plant,- en dan nog wel op precies dezelfde wijze- in het correspondeerende der 24 chromosomen, zou optreden.

Muteert nu de geslachtscel, dan zullen we slechts één zoo'n heterozygote mutant in de nakomelingen kunnen verwachten.

Muteert daarentegen een chromosoom eener vegetatieve cel, dan zullen tengevolge van de hierop volgende celdeelingen, onder anderen tallooze subepidermale cellen en vervolgens tallooze eicellen (respectievelijk pollen) ontstaan, die het op bepaalde wijze gemuteerde chromosoom bevatten. In dat geval zullen wij in de zelfbestoven nakomelingen *meerdere overeenkomstige heterozygote mutanten kunnen verwachten, ja zelfs soms homozygote mutanten.*

Mogen wij nu steeds uit het laatste optreden besluiten, dat het muteeren plaats had vóór de generatieve periode?

Deze conclusie is alleen geoorloofd, als de mutatie dominant of intermediair is ten opzichte van de vroegere eigenschappen! Anders

kan het immers ook een geval van opsplitsing zijn *van slechts één recessieve hybride* uit de vorige generatie, die op zijn beurt ontstaan was uit de vereeniging van een gewone met één gemuteerde *geslachtscel.*

Zoo is voor de vermelde gevallen in tabel 7 voor Nr. 1, 4, 6, 8, 9, 10, 11 en 19 af te leiden, dat het muteeren gedurende de haploïde phase (of kort er na) plaats had. In de gevallen 13 en 14 (homozygote mutaties) zou men daarentegen aan mutatie vóór de reductiedeeling kunnen denken. Doch deze laatste twee mutatie-gevallen zijn twijfelachtig wegens het hybride-karakter der ouderplanten.

Alle duidelijke mutatie-gevallen wijzen er dus op (voor zoover dit uit te maken valt), *dat het spontane muteeren bij tabak meestal gedurende de haploïde phase (of kort er na) plaats heeft,* hetgeen met de uitkomsten bij Drosophila en Antirrhinum overeenstemt.

De door HAYES (*45, 46, 47*) gevonden recessieve veelbladige mutatie in Cuba-tabak is in de literatuur steeds beschouwd als een typisch voorbeeld voor het bewijs, dat mutatie in de vegetatieve periode, dus als knopmutatie moet hebben plaats gehad. CASTLE (*41*) heeft opgemerkt, dat dit niet noodzakelijk is, omdat men zich ook parthenogenetisch het ontstaan kan denken. Waar parthenogenese zoo schaars is, lijkt dit wel wat gezocht, temeer waar er veel dringender redenen bestaan, om aan dit geval alle bewijskracht te ontzeggen. Niet alleen zag HAYES er *vijf* exemplaren van in den aanplant, doch bovendien vond JONES (*50*), dat deze veelbladigheid recessief is ten opzichte van den oorspronkelijken vorm, zoodat in de vorige generatie één hybride-mutant (mutatie ontstaan in de generatieve phase) voor de zaadwinning kon zijn uitgezocht (naast vele andere normale boomen) en deze door opsplitsing tot de 5 homozygote—zich toen eerst *demonstreerende*-mutanten aanleiding had gegeven. Waarom er niet meer dan 5 zullen zijn voorgekomen, wordt uit het onderzoek van JONES duidelijk. Wanneer deze geen bijzondere voorzorgsmaatregelen nam, gingen de homozygote mutanten door hun zwakte in de jeugd dood en vond hij in de F_2 niet meer dan 1 op de 80, inplaats van 1 op de 4 homozygote veelbladigen.

Het geval van HAYES bewijst dus niets, noch over het ontstaan der mutant als heterozygoot of als homozygoot, noch over het oogenblik, waarop muteeren plaats had.

Het is onbegrijpelijk, dat EAST (*2*) in zijn monographie deze foutieve gevolgtrekking heeft overgenomen.

6. PARALELLE EN GROEPSGEWIJZE MUTATIE (MUTATIEPERIODE).

De DWERGBOOM was een spontane mutatie, die in de Vorstenlandsche Y_{10}-tabak optrad (foto 6).

In 1930 zaaiden wij eenige honderden zaden dezer DWERGBOOM uit en we vonden naast de gebruikelijke ongeveer 1 % hybride-terugmutanten *twee nieuwe mutaties*, n.l. DWERGBOOM-*aurea*'s, met de typische *aurea*-eigenschappen, zooals LODEWIJKS die beschreef.

Tevens kweekten wij in 1930 eenige honderden nakomelingen van het oorspronkelijke E-zaad. In dit E-zaad traden niet minder dan 4 spontane mutanten op, n.l. drie *E-aurea*'s en de ééne steriele mutant beschreven in § 4.

De bifactorieele mutant in de A 40 bevond zich ook in gezelschap van andere monofactorieele mutanten.

Lezen wij nu na, wat LODEWIJKS (*52*, pag. 150/151) schrijft over de genealogie der door hem bestudeerde mutanten in de Y_{10}, dan treft ons het volgende: „Die beiden anderen neu entstandenen *aurea*-Pflanzen zeigten sich im Herbste dieses Jahres, und hatten eine verwickeltere Genealogie. Es wurde nämlich in der zweiten Generation einer reinen Rasse- von mir als Y_{10} notiert eine durch Mutation entstandene Riesensippe aufgefunden, die unten beschrieben werden wird. In der zweiten Generation dieser Sippe, zusammen über 3000 Individuen, fanden sich beide *aurea*-Pflanzen. Auch aus dem Hauptstamme der reinen Rasse kamen *aurea*-Pflanzen hervor".

Waar spontane mutatie in tabak een zeer zeldzaam verschijnsel blijft, dat men wel op 1 per miljoen taxeert, zal het toch niet toevallig zijn, dat juist in eenzelfde stamcultuur meerdere dezer mutaties optraden en het muteeren soms in volgende generaties werd voortgezet.

Wij hebben hier te doen met groepsgewijze muteeren van bepaalde zaadlijnen, die zich in een mutatie-periode bevinden, analoog met de Oenothera lamarckiana van DE VRIES (*57*, *58*).

Het optreden van *aurea*-mutanten in de E, Y_{10}, DWERGBOOM en KANARI is een typisch voorbeeld van een paralelle mutatie, die relatief gemakkelijk ontstaat. Blijkbaar is er één chromosoom in al deze tabaksvariëteiten aanwezig, dat op een bepaalde plaats betrekkelijk gemakkelijk muteert (groene chlorophylkleurstof ⟶ aurea).

Onze indruk over spontane mutaties bij tabak kan als volgt worden samengevat:

Spontane mutaties zijn meermalen met zekerheid geconstateerd. In eenige gevallen muteerden zij groepsgewijze uit bepaalde lijnen, terwijl andere lijnen van hetzelfde ras nimmer muteerden. Het waren in

de meeste gevallen monofactorieele mutaties. Er traden daarbij nieuwe eigenschappen op, die dominant, intermediair en recessief konden zijn ten opzichte van de vroegere eigenschap. De meeste mutanten ontstonden, voor zoover kon worden nagegaan, door het monofactorieel muteeren van een geslachtscel, waaruit meestal door vereeniging met een niet gemuteerde geslachtscel een mono-hybride resulteerde; een enkel maal ontstond door vereeniging van twee monofactorieel gemuteerde geslachtscellen een dihybride.

LITERATUUR.

36. ALLARD H A. Gigantism in *Nicotiana tabacum* and its alternative inheritance, Amer. Naturalist **53**: 218—233, 1919.
37. ALLARD H. A. The mendelian behavior of *aurea* character in a cross between two varieties of *Nicotiana rustica*, Amer. Naturalist **53**: 234—238, 1919.
38. ARISZ W. H. Over mutaties bij Tabak, 2de Nederl Ind Natuurwetensch. Congres, Bandoeng 1922.
39. ARISZ W. H. On the heredity of teratological characters. Double flowered mutants in tobacco, Genetica **9**: 39—100, 1927.
40. BAUR E. I. Untersuchungen über eine nur in Bastardform lebensfähigen Sippe von *Antirrhinum majus*, Ber. d. deutschen Botan. Gesellschaft **25**: 442—448, 1907.
41. CASTLE W. E. The cytological time of mutation in tobacco, Science **39**: 140, 1914
42. CLAUSEN R. E. & GOODSPEED T. H. Inheritance in Nicotiana tabacum. III The Occurence of two natural periclinal chimerae, Genetics **8**: 97—105, 1923.
43. CLAUSEN R. E. & GOODSPEED T. H. Inheritance in Nicotiana tabacum. IV. The trisomic character „enlarged", Genetics **9**: 181—197, 1924
44. CLAUSEN R. E. & MANN M. C. Inheritance in Nicotiana tabacum V. The Occurence of haploid plants in interspecific progenies, Proc. Nat. Acad. Science **10**: 121—124, 1924.
45. HAYES H. K. & BEINHART E. G. Mutation in tobacco, Science **39**: 34 - 35, 1914
46. HAYES H. K. & BEINHART E. G. The cytological time of mutation in tobacco, Science **39**: 284, 1914.
47. HAYES H. K. Tobacco mutations, Journal of Heredity **6**: 73—78, 1915.
48. HONING J. A. Nicotiana deformis N. Sp. und die Enzymtheorie der Erblichkeit, Genetica **5**: 455—476, 1923.
49. HONING J. A. Erblichkeitsuntersuchungen an Tabak. 1 Die Kloempang—Zwerg-Rasse, Genetica **9**: 1—5, 1927.
50. JONES D. F. The indeterminate growth factor in tobacco and its effect upon development, Genetics **6**: 433—444, 1921.
51. KLEBS G. Über erbliche Blütenanomalien beim Tabak, Zeitschrift f. induktive Abstamm.- und Vererbungslehre **17**: 53—119, 1916.
52. LODEWIJKS J. A. Erblichkeitsversuche mit Tabak I, Zeitschrift für induktive Abstamm.- und Vererbungslehre **5**: 139—172, 1911.

53. RUTTLE M. L. Chromosome number and morphology in Nicotiana. II. Diploidy and partial diploidy in root tips of tabacum haploids, University of California Publications in Botany 11: 213—232, 1928.
54 WHITE O. E. The bearing of teratological development in *Nicotiana* on theories of heredity, Amer. Naturalist 47: 206—228, 1913.
55. WHITE O. E. Studies of teratological phenomena in their relation to evolution and the problems of heredity. I. A study of certain floral abnormalities in *Nicotiana tabacum* and their bearing on theories of dominance, Amer. Journal of Botany 1: 23—36, 1914.
56. WHITE O. E. Studies of teratological phenomena in their relation to evolution and the problems of heredity. II The nature, causes, distribution, and inheritance of fasciation with special referance to its occurence in *Nicotiana*, Zeitschrift für induktive Abstamm.- und Vererbungslehre 16: 47—185, 1916.
57. VRIES H. DE Die Mutationstheorie, 2 dln, Leipzig, 1903.
58. VRIES H. DE Gruppenweise Artbildung, Berlin, 1913.

V. KUNSTMATIG OPGEWEKTE MUTATIES.

„Es liegt kein Grund vor von dem Problem abzustehen, Mutationen auf experimentellem Wege hervorzurufen. Mag sich auch der Naturforscher durch endlose Öden negativer Ergebnisse den Weg bahnen müssen, es wird früher oder später ihm oder seinen Nachfolgern doch gelingen sein Ziel zu erreichen".

KLEBS (*51*, pag. 117).

Het geheimzinnigste van mutaties was wel het onberekenbare van hun optreden, de niet blijkende samenhang met bepaalde omstandigheden, het tot voor korten tijd niet experimenteel kunnen veroorzaken ervan. Hoewel sinds lang duidelijke gevallen van mutaties bekend waren zoowel bij bacteriën, hoogere planten als dieren, moeten wij in het laatste waarschijnlijk wel de voornaamste reden zien, waarom bij velen het idee van muteeren zoo moeilijk ingang vond. Niet alleen LOTSY heeft zich tot op heden (*72*) tegen het feit van muteeren trachten te verzetten. SIRKS (*78*) spreekt in zijn „Handboek der Algemeene Erfelijkheidsleer" van 1922 het standpunt der onveranderlijkheid van het genotype duidelijk uit: „Indien een individu een in al zijn erfelijke. factoren homozygoot organisme is, is naar alle waarschijnlijkheid het genotype, noch spontaan noch door uitwendige oorzaak veranderlijk" In de volgende uitspraak van JOHANNSEN (*70*) in 1926 vindt men de oorzaak van dezen twijfel ten opzichte van het bestaan van mutaties— als gevolg van het niet experimenteel in de hand hebben ervan — neergelegd, waar deze met een zeker sarcasme zegt: „Die Heimlichkeit der Erzeugung einer solchen wirklich neuen Form ist — sie zu besitzen. Viele Neuheiten werden jedenfalls nicht „gemacht", sondern „gefunden"."

Niet allen hadden dus zooals KLEBS vertrouwen, dat ook de oorzaken van het verschijnsel experimenteel nog wel ontdekt zouden worden. Doch ook DE VRIES (*58*) schreef in 1913: „Der Grad der Mutabilität hängt offenbar von äusseren Ursachen ab. Die Gipfel blühender Sprosse im Herbst und die schwachen Seitenzweige

liefern Samen, welche für das Studium des Vorganges wenig geeignet sind" en in een uitgebreide publicatie (*83*) heeft deze onderzoeker onlangs aangetoond, dat de sterkte van muteeren bij Oenothera van het jaargetijde (duur der zonnestraling) afhankelijk is.

MULLER (*74*) nam in 1927 door zijn publicatie over „The transmutation of the gene" allen twijfel weg aan de mogelijkheid om experimenteel mutaties bij de fruitvlieg Drosophila doormiddel van X-bestraling te doen ontstaan. Dit was voor ons aanleiding om proeven met tabak hierover te beginnen.

---

1 BESTRALING EN PROEFPLANTEN.

Als proefplanten werden gekozen individuen van een KANARI-lijn, die sinds tientallen generaties door zelfbestuiving was voortgekweekt en volkomen homozygoot was. Deze lijn werd geregeld 2 maal per jaar in duizenden exemplaren als toetssoort tusschen de kruisingsnummers op het selectie-terrein van het Proefstation geplant. Zoover bekend, was hierin gedurende al dien tijd nooit een mutatie opgetreden; de lijn was volkomen constant.

Ook werden F_9-nakomelingen van EK voor de proef gebruikt, die niet als volkomen homozygoot kunnen worden aangezien. Toen dan ook later bleek, dat in de KANARI voldoende mutaties konden worden opgewekt, werden de mutaties uit deze EK- planten niet verder bestudeerd.

De planten waren in potten opgekweekt. Toen zij in bloei schoten werden ze naar het Dokter SCHEURER-Hospitaal te Klaten overgebracht, waar de Röntgen-bestraling door de vriendelijke bemiddeling van Dr. BAKKER plaats had.

De bestraling geschiedde met een „Heliodor D. B."-apparaat, geschikt voor diagnostiek en lichte therapie.

Wij bestraalden de bloeiwijzen op een afstand van ± 35 c.m. bij een buisspanning van ± 50 K. V. en ± 3 m. A. gedurende 5 en gedurende 10 minuten. Onlangs werd nog eens een dergelijke bestraling gedurende $17^1/_2$ minuten toegepast, waarvan de resultaten echter nog niet bekend zijn.

Aan de bestraalde bloeiwijzen bevonden zich alle stadia van juist gedifferentieerde bloemaanlegsels tot juist uitgebloeide bloemen met een begin van vruchtzetting. Oudere vruchten waren vooraf verwijderd.

De bloemen werden ingehuld zoodat zelfbestuiving plaats vond. Er werd niets bijzonders bij de vruchtzetting waargenomen, terwijl het zaad zich gewoon rijkelijk vormde.

---

2. OVERZICHT DER MUTANTEN, OPGETREDEN IN DE NAKOMELINGEN DER X-BESTRAALDE KANARI.

De zaadvorming had op normale wijze plaats. Er werden drie achtereenvolgende oogsten genomen en wel aldus:

a. Het eerst rijpe zaad (zaadmengsel uit de eerste 10 dagen, nadat de eerste zaadbol rijp was).

b. Tweede oogst, genomen 14 dagen na de eerste oogst.

c. Derde oogst, bevattende het zaad, dat nog na de tweede oogst gevormd werd.

De in deze uitzaai aangetroffen afwijkende vormen, die zooals uit de nakomelingen bleek, mutanten voorstelden, waren als volgt over de drie oogsten verdeeld (tusschen haakjes totaal aantal planten):

TABEL 8.

Oogst	a	b	c
5 min. bestraald	0 (980)	1 (1120)	0 (440)
10 min. bestraald	0 (1070)	18 (1790)	1 (660)

Behalve één recessieve mutant (*elliptica*, die uit één der 15 voortgekweekte, uiterlijk als KANARI uitziende, vormen afsplitste) waren alle mutanten duidelijk afwijkende planten.

Waarschijnlijk was het percentage mutaties dus grooter.

Alle 20 mutanten waren onderling verschillend.

Als contrôle bevonden zich op hetzelfde veld eenige duizenden nakomelingen van niet-bestraalde KANARI's, waarin geen enkele nieuwe vorm werd waargenomen.

De bestraling van 5 minuten schijnt wel zoowat de drempelwaarde geweest te zijn, waarbij nog mutatie optrad.

Van de 20 opgevallen nieuwe vormen werden er 19 in de tweede zaadoogst (b) aangetroffen en in de eerste zaadoogst (a) geen enkele.

Uit den ontwikkelingstijd van een bloemknop in een klamboe (zie pag. 4) kunnen we afleiden, dat geen mutaties in de reeds bevruchte eicellen waren veroorzaakt en uit het slechts éénmaal als hybride voorkomen der intermediaire en dominante mutanten (zie tabel 9) kan hiervoor worden aangenomen, *dat de mutatie in de haploïde phase, als geslachtscel had plaats gehad* (voor *elliptica* is dit niet uit te maken; voor *chlorina* zal de mutatie misschien in het einde der vegetatieve phase hebben plaats gehad).

TABEL 9. OVERZICHT DER KUNSTMATIG VERWEKTE MUTANTEN IN KANARI.

Zaadnummer 1929, naam	Kiemkracht	Aard der mutatie	Recessief of dominant	Al of niet ontstaan als hybride
1971 Gigas	93.4 %	monofactorieel	intermediair	één hybride
957 —	51.0 %	bifactorieel	recessief; dominant	één hybride
762 Elliptica	69.2 %	monofactorieel	recessief	één hybride
765 Erecta	66.2 %	monofactorieel	dominant	één hybride
754 Aurea nana	63.0 %	monofactorieel	dominant	één hybride
1937 Aurea alta	79.4 %	monofactorieel	dominant	één hybride
753 Aurea humilis	?	monofactorieel	dominant	één hybride
755 Atroviridis	25.9 %	monofactorieel	dominant	één hybride
1936 Chlorina	86.4 %	?	dominant	één homozygoot
776 Lancifolia	83.6 %	monofactorieel	intermediair	één hybride
751	66.8 %	monofactorieel	dominant	één hybride
756	83.1 %	monofactorieel	dominant	één hybride
757	75.0 %	monofactorieel	dominant	één hybride
758	72.0 %	monofactorieel	dominant	één hybride
759	82.8 %	monofactorieel	dominant	één hybride
769	40.1 %	monofactorieel	dominant	één hybride
770	49.0 %	monofactorieel	dominant	één hybride
771	90.1 %	monofactorieel	dominant	één hybride
772	79.8 %	monofactorieel	dominant	één hybride
773	79.6 %	monofactorieel	dominant	één hybride

De „kiemkracht" stelt voor het percentage gekiemde zaden op vochtig filtreerpapier in licht na 10 dagen (1000 zaden).

Van deze 20 verschillende vormen werd in 18 gevallen geconstateerd, dat in de nakomelingen overal naast het oudertype bijna uitsluitend KANARI voorkwam. Wij hebben daar dus blijkbaar overal met monohybriden te doen. Verder bleek één dihybride (957/1929) op te treden en één vorm (1936/1929, *chlorina*) direct constant te zijn.

Wegens beperkte plaatsruimte op het proefveld werden slechts de eerste tien mutanten uit de tabel nauwkeurig en in het groot verder bestudeerd. Van deze zullen in de volgende paragraaf eenige voorbeelden worden behandeld.

Bij KANARI heeft men een kiemkracht van ongeveer 70 tot 90 percent, waaruit volgt, dat enkele der hybride-mutanten in kiemkracht zijn achteruitgegaan (speciaal 957/1929, 755/1929, 769/1929, 770/1929). Wanneer we bijvoorbeeld bij de *atroviridis*- nakomelingen aannemen,

dat $^1/_4$ van het zaad zuivere KANARI's waren, die met een kiemkracht van 90 % dus reeds $22^1/_2$ % kieming zullen hebben veroorzaakt, blijft er voor de hybride-mutant plus de eventueele homozygote vorm nog maar ± 3% over. Inderdaad waren hier ook niet meer dan 8,7 % der gekiemde planten van het *atroviridis*-type. Zoo wordt het duidelijk, dat in dergelijke gevallen belangrijke afwijkingen van de theoretische verhoudingsgetallen der Mendelsplitsingen kunnen worden verwacht.

Geen der gemuteerde planten was dus steriel, abnormaliteiten (uitgezonderd in één geval een wat eigenaardige nervatuur in de bladranden) kwamen niet voor.

Wat de bifactorieele mutatie in de tweede zaadoogst der 10 minuten bestraalde planten betreft, kunnen we deze terugbrengen tot het samentreffen van twee monofactorieel gemuteerde geslachtscellen. De kans, dat er op deze wijze één bifactorieele mutatie ontstaat op de 1790 planten, is gelijk aan één, wanneer $\sqrt{\frac{1}{1790}} = 2.2\%$ der geslachtscellen gemuteerd zijn door de X-bestraling.

Daar makkelijk waarneembare dominante mutaties onder deze omstandigheden zooals wij zagen voor ongeveer 1 % optreden is een dergelijk totaal mutatie-percentage (inclusief de recessieve mutanten) een zeer aannemelijke veronderstelling. Naar het percentage recessieve mutanten zal nog door het beoordeelen van eenige honderden uiterlijke KANARI-planten in hun nakomelingen een oordeel worden gevormd.

We vonden dus, dat door een nog juist uitwerkende X-bestraling vooral monofactorieele mutaties van geslachtscellen optraden: zoowel dominante, recessieve als intermediaire. Waarschijnlijk door bevruchting van 2 zulke geslachtscellen ontstond één bifactorieele mutant.

Een aansluitend cytologisch onderzoek is thans noodzakelijk. Hiervoor kon echter nog geen tijd worden gevonden.

---

3. ANALYSE VAN EENIGE DER NADER BESTUDEERDE MUTANTEN.

We zullen in het volgende de zaden, die door zelfbestuiving aan de bestraalde bloemtros ontstaan, als F_1- generatie aanduiden.

a) *Elliptica-mutant.*

Uit de F_1 der 10 minuten bestraalde KANARI-planten, die er uiterlijk als KANARI uitzagen, werden 15 exemplaren door zelfbestuiving voortgekweekt. Eén hiervan, waarbij de aanteekening „flinke zware plant" was gemaakt, splitste in de F_2 naast uiterlijk als KANARI uit-

ziende planten een aantal zeer smalbladige, langzaam groeiende individuen af. Deze smalbladigen (zie foto 16) zagen er onderling gelijk uit, bloeiden met een normale bloemtros en zetten rijkelijk zaad. In het F_2-aanplantje bevonden zich naast 40 KANARI's 9 *elliptica*-planten, zooals ze werden genoemd. Een tweede uitzaai leverde 698 KANARI : 161 *elliptica* (± 19½% *elliptica*). In de F_3 waren de *elliptica*'s zuiver; zij leverden steeds uitsluitend *elliptica*, uitgezonderd één nieuwe plant onder 143 exemplaren, die een voortgezette mutatie, n.l. de *elliptica-aurea* voorstelde.

Van de 9 door zelfbestuiving voortgekweekte KANARI-planten gaven 3 planten in de F_3 uitsluitend KANARI's De 6 overige splitsen als volgt op in KANARI en *elliptica*:

TABEL 10.

Zaadnummer 1930	Aantal planten in F_3 van:	
	KANARI	Elliptica
1300	368	47
1304	323	66
1306	350	75
1311	320	83
1314	319	94
1315	324	82
Totaal	2004	447
	82%	18%

De kiemkracht van 1300 en 1304 werd bepaald; deze bedroeg 93,9% en 96.9%.

Hier hebben we dus een duidelijk geval van een *recessieve monofactorieele mutatie*. Het te kort aan *elliptica*'s wordt zonder twijfel veroorzaakt door de zwakte dezer planten in de jeugd, waarbij het moeite kost ze op het zaadbed tusschen de veel sneller groeiende KANARI-kiemplanten in leven te houden.

b) Chlorina-mutant.

In de F_1 der 10 minuten X - bestraalde KANARI-planten werd één exemplaar gevonden, dat door licht-groene bladkleur opviel. In de jonge bladen was zelfs een zekere mozaiekachtige vlekking waar te nemen. Het was een breedbladiger type (tot in het topblad toe) dan de KANARI en het gefermenteerde blad dezer éène plant was

goed en bijzonder helder. De bladranden hadden neiging iets dorsaal om te bollen. De bloemen en vruchten waren groot.

In de F_2 leverde het aanplantje van 40 planten slechts *chlorina*. We hadden hier dus een voorbeeld van een als homozygoot ontstane mutant, die bovendien dominant bleek over KANARI. Er werd namelijk een F_3 gemaakt door zelfbestuiving en door reciproke kruising met KANARI. Alle drie de nakomelingen waren (in honderden exemplaren) uniform op de nader te noemen uitzonderingen na.

De beide reciproke kruisingen gaven aan elkaar gelijke nakomelingen waarin het *chlorina*-karakter sterk domineerde. Uit de volgende generaties zal getracht worden den aard der plaats gevonden mutatie af te leiden.

Onder de honderden exemplaren der kruising *chlorina* × KANARI reciprook (zie foto 15) bevonden zich twee nieuwe mutanten, namelijk van het *chlorina-aurea*-type. Verder kwamen ongeveer 1—2 % KANARI-achtige planten voor, die wij evenals bij den DWERGBOOM wel als terugmutaties (atavisten) zullen moeten beschouwen.

c) Lancifolia-mutant.

In de F_1 der 10 minuten X- bestraalde planten werd een exemplaar gevonden, dat wij *lancifolia* noemden.

De plant was ijler dan KANARI (zie foto 13) had wat meer bladen, waardoor hij wat later bloeide en hooger doorschoot. De bloemtros was ook ijler, de vruchten spitser en kleiner. De bladen waren niet alleen smaller, doch vielen bovendien door hun donkergroene kleur op. De meeldraden hadden de neiging wat korter te blijven dan de stijl, ongeveer de helft van het gevormde stuifmeel was abnormaal klein en verschrompeld en kieming hiervan in suiker-gelatine oplossingen kon niet worden waargenomen. De zaadvorming was normaal en rijkelijk. De kieming van het zaad was voortdurend iets kleiner, zoowel bij zelf- als kruisbestuiving met KANARI, dan van het KANARI-zaad. In de zaadbakken ontkiemden van het KANARI-zaad gemiddeld ongeveer 85%, van het *lancifolia*-zaad gemiddeld zoowat 70%. In licht op vochtig filtreerpapier was de kieming na 10 dagen voor beide wat hooger, doch het verschil bleef even duidelijk bestaan. Waar *lancifolia* een hybride blijkt, was het mogelijk, dat het KANARI-zaad hiervan beter kiemde, het andere deel véél slechter. Was dit zoo, dan zouden de verhoudingsgetallen hierdoor belangrijk worden beïnvloed. Op verschillende manieren bleek, dat echter deze opvatting onwaarschijnlijk is en dat we eerder zullen moeten denken aan een invloed van de moederplant, die van *beide* zaadsoorten de kiemkracht vermindert.

De zelf- en kruisbestuiving met KANARI leverde in de F_2 de volgende resultaten:

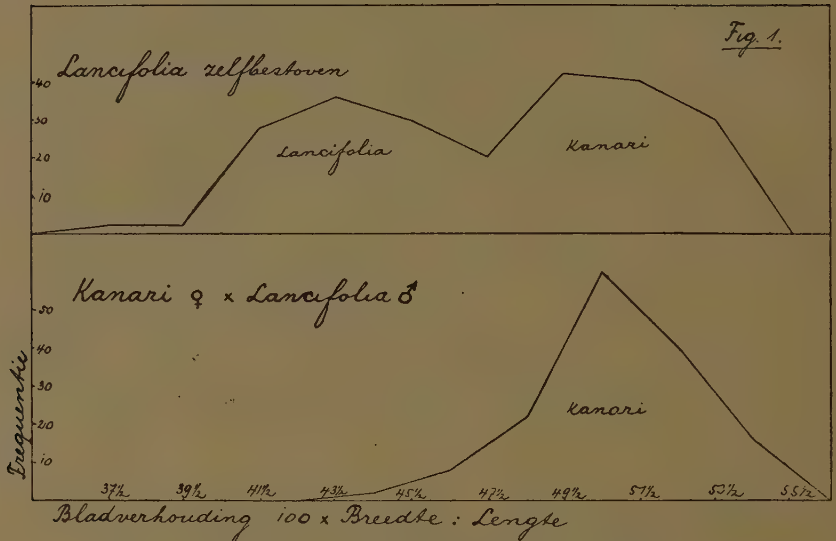

Fig. 1. Frequentiecurven der bladverhouding bij nakomelingen eener zelfbestuiving van lancifolia F_1 en bij nakomelingen van lancifolia F_1 ♀ × KANARI ♂.

Frequency-distributions of leafform in a progeny of selfed lancifolia F_1 and in a progeny of lancifolia F_1 ♀ × KANARI ♂.

TABEL 11. F_2-NAKOMELINGEN DER LANCIFOLIA (ZELF- EN KRUISBESTUIVING).

	KANARI	*lancifolia*	Andere vormen
lancifolia: zelfbestoven	453 (43.6%)	581 (55.8%)	6 (0.6%)
lancifolia ♀ × KANARI ♂	466 (48.2%)	491 (50.8%)	10 (1.0%)
KANARI ♀ × *lancifolia* ♂	887 (98.6%)	9 (1%)	4 (0.4%)

Onmiddellijk valt het op, dat met het pollen de *lancifolia*-eigenschap bijna niet overgaat. Eerst meenden wij, dat deze *nooit* overging en dat de enkele *lancifolia*-planten uit de kruising met KANARI als moeder nieuwe „secundaire" mutaties voorstelden. Echter is nu uit de nakomelingen gebleken, dat wij hier inderdaad met *lancifolia*'s te doen hadden. Waar de *lancifolia*-mutatie overigens nog maar éénmaal ontstaan is, komt het hoogst onwaarschijnlijk voor, dat in deze kruising 9 maal deze zelfde mutatie zou zijn ontstaan. We hebben hier dus niet met volledige lethaliteit van het *lancifolia*-pollen te doen, doch met semilethalitiet. Theoretisch moet dus ongeveer 49% van het *lancifolia*-stuifmeel de eicellen niet bereiken. Geheel in overeenstemming hiermede is, dat ongeveer de helft van dit stuifmeel verschrompeld bleek en in suiker-gelatine niet kiemde.

Wanneer echter het semi-lethale stuifmeel voor ongeveer 2% de eicel bereikt, zal àls de homozygote vorm levensvatbaar is, ook in de zelfbestoven nakomelingen een enkele homozygote *lancifolia* te verwachten zijn. Inderdaad werd een dergelijke plant gevonden, die met KANARI gekruist uitsluitend *lancifolia*'s gaf en bij zelfbestuiving zuiver voortkweekte, hoewel de zaadvorming zooals verwacht kon worden (de groote massa pollen kiemde niet) niet zeer rijkelijk was. Het bleek uit de homozygote vorm (38 bladen, smalbladig, zeer ijl), dat de hybride met KANARI (de *lancifolia*) intermediair was.

Hoewel dus de zelf- en kruisbestuiving der F_2 hoofdzakelijk KANARI's en *lancifolia*'s opleverde (vgl. ook de tweetoppige curve der bladverhouding van *lancifolia* ♀ × KANARI ♂, fig. 1), zien wij buitendien nog voor een klein gedeelte „nieuwe vormen" optreden.

Deze planten bleken bij onderzoek in hun nakomelingen nieuwe monofactorieele mutaties te wezen. Er waren eenige *aurea*-vormen onder, doch ook vele andere. Nu zou men misschien nog aan het ontstaan van deze nieuwe vormen kunnen denken door overkruisingsverschijnselen bij de *lancifolia*-hybride, die zooals MAVOR & SVENSON (*73*) voor Drosophila aantoonden ook na X-bestraling toenemen.

Echter treden zij ook op uit de zuivere KANARI's, waar niets uit te wisselen is, *zoodat hierdoor het ontstaan van secundaire mutanten in de generaties volgende op een eenmaal X- bestraalde voorouder bewezen is.*

Tevens blijkt hieruit, dat ook andere chromosomen, dan waarin direct door de X- bestraling mutatie plaats had, in volgende generaties kunnen gaan muteeren.

Van een reeks gewone KANARI's en *lancifolia*'s uit de F_2 werden tevens nogeens nakomelingen gewonnen door zelfbestuiving.

TABEL 12. F_3-NAKOMELINGEN DER LANCIFOLIA.

	KANARI	*lancifolia*	Andere vormen
Nakomelingen uit lancifolia F_1 zelfbestuiving			
KANARI F_2 zelfbest. (9)	1274 (99.8%)	0	2 (0.2%)
lancifolia F_2 „ (8)	507 (46.7%)	577 (53.1%)	2 (0.2%)
Nakomelingen uit lancifolia F_1 ☿ × KANARI ♂			
KANARI F_2 zelfbest. (2)[1]	308 (99%)	0	3 (1%)
lancifolia F_2 „ (7)	519 (51.8%)	482 (48.1%)	1 (0.1%)
Nakomelingen uit de kruising KANARI ☿ × *lancifolia* F_1 ♂			
KANARI F_2 zelfbest. (4)[2]	558 (99.6%)	0	2 (0.4%)

Ook hierbij vinden we hetzelfde gedrag als bij de F_2- nakomelingen der *lancifolia:* een klein deel nieuwe mutanten treden op; voor de rest ontstaan ongeveer voor de helft KANARI's en ongeveer voor de helft *lancifolia*'s, zoowel bij zelfbestuiving van de laatste als bij kruising van deze met KANARI-pollen, hetgeen geheel door het feit der bijna volkomen pollen-lethaliteit van het gemuteerde gen verklaard kan worden.

Volledigheidshalve zij opgemerkt, dat individueel nog wel eens een belangrijke afwijking van deze verhouding 1 : 1 voorkwam. Omstandigheden kunnen hier echter een groote rol spelen, zooals uit de afwijkende verhoudingsgetallen bij dezelfde *deformis*-mutant in Deli en in Holland aan HONING (*48*) bleek.

[1]) Bovendien werden nog 9 zulke KANARI-nakomelingen op de bedden als groote bibit (ieder ± 260 planten) beoordeeld als uitsluitend KANARI en wegens plaatsgebrek niet uitgeplant.

[2]) Bovendien werden nog 9 zulke KANARI op de bedden als groote bibit (ieder ± 260 planten) beoordeeld als uitsluitend KANARI en wegens plaatsgebrek niet uitgeplant.

Foto 13. Rechts Kanari en links de als hybride ontstane monofactorieele lancifolia-mutant.

Kanari (at right) and the induced monofactorial lancifolia-mutation (hybrid).

Foto 14. Secundaire bloem-mutanten uit de lancifolia:
1. Dubbelbloemig; 2 en 3 Rudimentair dubbelbloemig;
4. Korte meeldraden, donkerroode bloemkroon:
5. Vervormde stijlen zonder stempel;
6. Zeer korte stijlen: 7 grootbloemig, lange meeldraden;
8. Kanari ter vergelijking.

Secondary flower-mutations in the lancifolia:
1. Catacorolla; 2 and 3. Rudimentairy catacorolla; 4. short anthers, dark red corolla; 5. Stylus without stigma;
6. Very short stylus; 7. large flower, long anthers;
8. Kanari as control.

Thans is nog een uitgebreide proef gaande over de verhoudingsgetallen na zelfbestuiving aan dezelfde *lancifolia*-bloeiwijze om na te gaan of hier de vroege en late bloemen ook verschillende afwijkingen in die verhoudingen geven, zooals HAIGH & LOCHRIE (67) bij Vigna sinensis vonden.

De „andere vormen" zullen wel weer nieuwe mutanten zijn. Enkele *aurea's* zijn dit zeker, voor de rest is dit thans niet meer nagegaan.

In de F_2 werden ook nog weer eenige reciproke kruisingen met KANARI gemaakt; deze gaven overeenstemmende uitkomsten, zoodat wij hiervan geen verslag meer geven.

Wel zij nog opgemerkt, dat een enkele als KANARI uitziende plant in de F_2 een nieuwe recessieve mutatie kon geweest zijn. Een geval hebben we daarvan ook gevonden, want in de nakomelingen trad daarbij de bekende dubbelbloemige mutatie op.

Van de talrijke nieuwe vormen, die alleen uit deze éène *lancifolia* in de F_2 en F_3 secundair zijn ontstaan, geeft foto 14 voor de bloem een idee.

We hebben hier dus een duidelijk geval van een monofactorieele mutatie, waarbij de gemuteerde vorm zich als intermediair tegenover de KANARI gedraagt. De mutatie brengt semi-lethaliteit van het pollen mede. In de F_2- en F_3-generatie muteeren voor een klein percentage nieuwe vormen uit.

d) Aurea - mutanten.

In de F_1 der 10 minuten bestraalde KANARI-planten traden drie erfelijk-verschillende *aurea*-mutanten op, die in uiterlijk geheel aan de spontaan optredende *aurea*-mutanten deden denken.

Ook in de F_1 der 10 minuten bestraalde EK- planten werden talrijke *aurea*-mutanten opgemerkt. Echter werd met deze EK- mutanten niet verder gewerkt.

Dat de verschillen tusschen de 3 typen erfelijk waren bleek uit de nakomelingen-beoordeeling. De verschillen kwamen voornamelijk neer op verschillen in bladaantal en in de lengte der meeldraden, die echter bij alle drie vormen korter dan de stijl waren.

We onderscheiden hiernaar 3 vormen en wel:

aurea nana. Bladaantal klein, gemiddeld 36 (vooraanplant 1930), dwergachtig. Zeer korte meeldraden.

aurea humilis. Bladaantal gemiddeld 42 (vooraanplant 1929) gedrongen. Meeldraden niet zoo kort als bij den vorigen vorm.

aurea alta. Door het groote gemiddelde bladaantal van 50 bladen (vooraanplant 1929) vrij hoog. Meeldraden slechts iets korter dan stijl.

Ter vergelijking diene, dat de KANARI-planten onder dezelfde omstandigheden gemiddeld 35 bladen maakten.

TABEL 13. F_2-NAKOMELINGEN DER AUREATYPEN.

	KANARI	*Aurea*
AUREA NANA		
Zelfbestuiving		
1e uitzaai	54	46
2e uitzaai	95	54
Totaal	149 (40.2%)	100 (59.8%)
Aurea nana ☿ × KANARI ♂		
1e uitzaai	60	62
2e uitzaai	93	87
Totaal	153 (50.7%)	149 (49.3%)
KANARI ☿ × *Aurea nana* ♂		
1e uitzaai	123	0
2e uitzaai	176	1 ?
Totaal	299 (99.7%)	1 ? (0.3%)
AUREA HUMILIS		
Zelfbestuiving	27 (63%)	10 (27%)
AUREA ALTA		
Zelfbestuiving	54 (48%)	58 (52%)
KANARI ☿ × *Aurea* ♂	247 (85.9%)	41 (14.1%)
Aurea ☿ × KANARI ♂	40 (14.9%)	229 (85.1%)

De KANARI's gaven uitsluitend KANARI-nakomelingen.

Ook de zelfbestoven *aurea*-nakomelingen uit de F_2 splitsen weer op in *aurea* en KANARI.

Wij vinden dus hetzelfde als bij de spontane *aurea*-mutanten: afwijkingen van de theoretische verhoudingsgetallen, waarschijnlijk o. a. tengevolge van de dikwijls slechte kiemkracht; en verder doordat de homozygote *aurea*-vorm niet ontstaat.

Bij de *aurea-nana* komt wellicht nog lethaliteit van de pollenkorrels voor. De éénige *aurea* voorkomende in de tweede uitzaai kan een secundaire mutant wezen.

e) gigas-mutant.

In de F_1 der 10 minuten bestraalde KANARI-plant viel een exemplaar op, dat veel bladen maakte (*48*) en hooger werd (*gigas*). De opdroging van het blad was helder. Door zelfbestuiving werd zaad verkregen. In de nakomelingen vonden we planten met 37 tot 60 bladen benevens doorschieters, die geen bloemen vormden en meer dan 100 bladen hadden.

Het heele geval vertoont volkomen overeenkomst met het geval van spontane mutatie door LODEWIJKS (*52*) beschreven en dezelfde verklaring is er dan ook voor te geven. Het doorschieter-type is waarschijnlijk de homozygote mutante vorm (monofactorieel gemuteerd). Het veelbladige type is de intermediaire hybride vorm tusschen KANARI en doorschieter. Het intermediaire karakter was ook terug te vinden in de lichter groene bladkleur en het gegolfd zijn der bladranden. Op deze wijze waren de zuivere KANARI's goed van de veelbladige hybriden te onderscheiden.

Evenals JONES (*50*) bij zijn spontane veelbladige mutant vond, traden er te weinig doorschieters op, hetgeen ook hier klaarblijkelijk veroorzaakt werd door ongelijke levenskansen der drie typen in de jeugd.

Tellingen leverden het volgende op: 50 KANARI (24 % ; gem. bladaantal 34.5), 137 *gigas* (65 % ; gem. bladaantal 41.5), 24 doorschieter (11 %, bladaantal ∞).

In de F_3 splitsten de veelbladige planten weer op dezelfde wijze. Zelfbestoven KANARI gaf uitsluitend KANARI terug.

f) Dihybride mutant.

Evenals ons één spontane bifactorieele mutatie bekend is, vonden we er ook één onder de X- bestralings-mutanten, die we beide elders wellicht nog eens nauwkeuriger zullen beschrijven. We volstaan hier met te vermelden, dat beide factoren in de richting van smal blad muteerden, waarbij één der factoren dominant, de ander recessief ten opzichte van den niet gemuteerden vorm was. Eén der gemuteerde factoren bracht tegelijk eigenaardige omkrulling der bladen mee. Uit deze mutatie waren behalve de KANARI dus 3 (nieuwe) constante vormen af te zonderen, van welke laatste er twee in foto 17 en 18 weergegeven zijn.

---

4. PARALELLE, ANALOGE, SECUNDAIRE EN GROEPSGEWIJZE MUTATIE (MUTATIE-PERIODE).

De opmerkelijke feiten, die in de nakomelingen van de *lancifolia*-mutatie door het uitgebreide plantmateriaal, zoo sprekend voor den dag kwamen, treden ook bij alle andere nader bestudeerde mutaties te

voorschijn. Het voortgezette muteeren in volgende generaties troffen we, zooals reeds werd aangegeven, ook aan bij de *chlorina-* en de *elliptica*-mutanten.

De om zijn donkere bladkleur als *atroviridis* onderscheiden mutant met zeer smal blad gaf in de F_2 een opsplitsing in KANARI en *atroviridis* te zien. Onder deze 241 planten vonden we echter de volgende twee nieuwe mutanten: een *aurea* van het KANARI-type en een steriele „mutant", zooals die ook wel eens spontaan voorkomt en die klein blijft en niets dan kleine blaadjes vormt.

Uit een kruising der *atroviridis*-F_1 met KANARI-pollen werden 248 nakomelingen verkregen: *atroviridis-* en KANARI-planten, uitgezonderd twee, namelijk één *aurea*-mutant en één afwijkende plant, waarvan het mutatie-karakter echter nog niet kon worden bestudeerd.

Ook hier treden dus ongeveer 1% uiterlijk makkelijk zichtbare secundaire mutanten op.

Onder de primaire mutanten hadden we verder een ijle hoog opschietende plant, daarom *erecta* genoemd, nader genetisch bestudeerd. In de 92 door zelfbestoven verkregen F_2-nakomelingen troffen we naast de KANARI- en *erecta*-planten 2 abnormale vormen aan. Één dezer, die bij zelfbestuiving in tegenstelling tot de *erecta* steriel bleek, werd door kruising met KANARI-stuifmeel in zijn nakomelingen onderzocht, waarbij de erfelijkheid ervan kon worden vastgesteld. De andere splitste in zijn nakomelingen monofactorieel op in KANARI, den homozygoten mutanten vorm en den intermediairen. Deze dus als hybride ontstane secundaire mutatie (een sierlijke plant met fijn blad) was dus intermediair ten opzichte van zijn vroegere eigenschappen.

Nakomelingen der F_2: zoowel van KANARI als van *erecta*-planten, werden bestudeerd. De zelfbestoven KANARI-planten gaven uitsluitend KANARI-nakomelingen, doch de *erecta*-F_2 planten splitsen in de F_3 weer op in *erecta* en KANARI. In de nakomelingen van drie der zeven genetisch bestudeerde *erecta*-F_2 (totaal 842 planten) vonden we opnieuw vier duidelijke secundaire mutanten en wel een *aurea* van het *erecta* type, een *aurea* van het KANARI-type, een mutant met afhangende bladeren, en een dwergplant met donkergroen blad en vuurroode bloemen. Ook hier treedt dus het voortgezette groepsgewijze muteeren, zoowel in de F_2, als de F_3 weer op.

Ook in de nakomelingen der bifactorieele primaire mutatie, troffen we het verschijnsel van het secundaire muteeren aan. Daar de opsplitsing in F_2 en F_3 talrijke combinatie-vormen oplevert, zijn nieuwe mutaties niet zóó makkelijk te ontdekken. Toch waren er eenige *aurea*-mutanten, zoowel van het kronkelbladige als van het smalbladige type, die elken twijfel weg nemen.

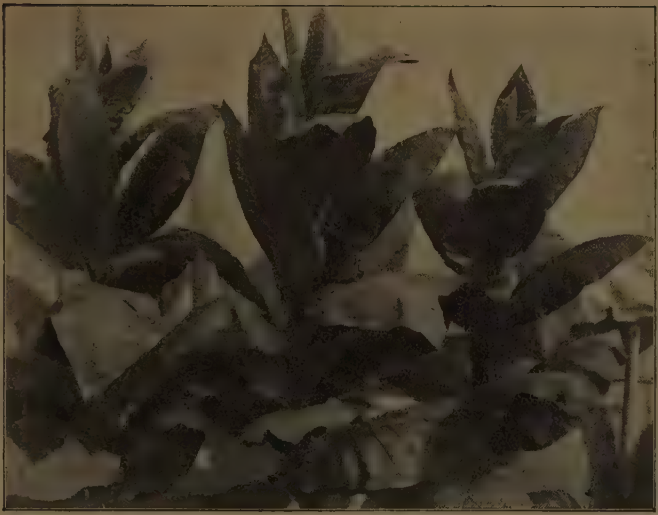

Foto 15. F_1 der kruising: Kanari ♀ × chlorina ♂-mutant. De breedbladige kunstmatig verwekte chlorina-mutant domineert.

F_1 of Kanari ♀ × chlorina ♂-mutation. The induced chlorina-mutation with broad leaves is dominant

Foto 16. Kunstmatig verwekte monofactorieele elliptica-mutant (recessief).

Induced monofactorial elliptica-mutation (recessive).

Foto 17. Lijn met gekrulde bladen, geisoleerd uit een kunstmatig opgewekte bifactorieele mutant.

Strain with rolled leaves, isolated from an induced bifactorial mutation.

Foto 18. Vakje met smalbladige lijn, geisoleerd uit dezelfde kunstmatig opgewekte bifactorieele mutatie.

Narrow-leaved strain, isolated from the same bifactorial mutation

In de F_3- nakomelingen der veelbladige gigas vonden wij één *aurea* en wel van het veelbladige type, die zeker een secundaire mutant voorstelt.

Het is dan ook zeker een algemeen verschijnsel, dat onze primair opgewekte mutaties in de F_2 en F_3 doormuteeren en ook deze secundaire mutanten weer nieuwe mutanten kunnen opleveren. Dit groepsgewijze muteeren komt geheel overeen met wat DE VRIES bij de *Oenothera*-mutaties vond en ook wat bij de spontane tabaksmutanten meermalen werd geconstateerd. DE VRIES heeft zich wel eens voorgesteld, dat een soort *geleidelijk* in een mutatieperiode zou komen. Deze zegt in zijn „Gruppenweise Artbildung", pag. 343: „Die Mutabiliteit oder das Vermögen, durch Mutation neue Formen hervorzubringen, hat sich vermutlich in der Untergattung Onagra ganz allmählich entwickelt". We hebben nu bij tabak gezien, dat dit geleidelijke komen in een mutatieperiode in ieder geval niet steeds het geval is; juist het plotselinge hiervan was één der meest treffende verschijnselen. *Het is nu ook duidelijk, waarom naar de afhankelijkheid van uiterlijke omstandigheden zoo dikwijls tevergeefs werd gezocht.* De stoot tot muteeren kan namelijk al generaties te voren de plant en zijn nakomelingen in een mutatie-periode hebben gebracht, zonder dat onder de tegenwoordige omstandigheden hiervoor eenige uitwendige oorzaak aanwezig is. Een extreme invloed brengt voor vele generaties de genen-structuur in een labielen toestand. De opmerking van DE VRIES (*58*, pag. 342): „jede einzelne Mutation musz selbstverständlich nicht nur innere, sondern auch *aüssere*[1]) Ursachen haben" kunnen wij nu ook niet meer onderschrijven. Wel komt een plantensoort, die zich — zooals DE VRIES voor Oenothera beschreef — over de wereld verplaatst eerder onder verschillende (extreme) uitwendige omstandigheden, dan wanneer zij aan één plaats gebonden blijft („Offenbar wandern sie[2]) im groszen und ganzen fortwährend von der einen Stelle zu einer anderen").

De F_1-, F_2- en F_3-nakomelingen der bestraalde planten gaven ongeveer 20 *aurea*-typen. Deze vertoonden alle juist zooals LODEWIJKS beschreef een gele glans vooral aan de bladpunten, een gedrongen habitus, langzame groei, kleine bladen en kleine vruchten. A priori zou men al deze verschijnselen wel als physiologisch gevolg kunnen beschouwen alleen van de afwijkende chlorophyl-samenstelling van het blad en zou men zich al deze eigenschappen dus ook door één gen (chromomer) bepaald kunnen denken. De te korte meeldraden door

[1]) Cursiveering door ons.
[2]) Oenothera.

LODEWIJKS beschreven werden ook door ons meestal gevonden, doch de noodzakelijke physiologische samenhang met de afwijkende chlorophyl-samenstelling was hier niet zóó voor de hand liggend. Dit bleek ook, toen tenslotte één *aurea*-mutant optrad met gewone meeldraden.

Hieruit volgt, dat de meeste *aurea*-mutanten, al splitsen ze monofactorieel, nog wel een complexe mutatie van meerdere genen kunnen zijn. Zoo ontstonden uit de KANARI zoowel erfelijk veelbladige als weinigbladige *aurea*'s. Het muteeren van de *aurea*'s stelt dus niet altijd een gelijke, doch wel een *analoge* mutatie voor. Bij het muteeren van het *aurea*-karakter worden dàn eens deze, dàn weer andere (waarschijnlijk buur-) genen meegesleept. Het feit, dat de eigenschap van korte meeldraden bijna steeds met het *aurea*-karakter meemuteert wijst er op, dat beide genen vlak bij elkaar in een chromosoom liggen.

Nog op een theoretisch interessante kwestie zij hier gewezen. Uit een sinds vele generaties voortgekweekte KANARI-lijn muteerde dus, zoover bekend, nooit een *aurea*-vorm. Eén X-bestraling was echter voldoende, om het *aurea*-karakter labiel te maken, zoodat nu in de volgende generaties geregeld *aurea*'s ontstonden. BAUR (*59*) had overeenkomstig bij zijn spontane Antirrhinum-mutanten gevonden, dat in sommige lijnen een gen (chromomer) „eine Tendenz zu einer ganz bestimmten Mutation haben kann, während *dasselbe* Chromomer in anderen Sippen der gleichen Art gar nicht mutiert. Z. B. die Mutation *Gra* zu *gra* (graminifolia), ist nur in einer *bestimmten* Familie von *Antirrhinum* hier aber *mehrfach*, aufgetreten. Es musz also von dem Chromomer, in dem der Faktor *Gra* lokalisiert ist, quasi zwei „Varietäten" geben, eine Konstante und eine, die mit der Tendenz des Mutierens zu *gra* behaftet ist, oder man kan auch sagen es ist bei der einen Sippe das *Gra*-Chromomer gewissermaszen „prämutiert"." (*59*, pag. 321) Uit het *aurea*-muteeren hebben we een indruk gekregen, hoe een dergelijke situatie kan ontstaan, dat namelijk een bepaald gen in één lijn inmutabel, in een andere overeenkomstige lijn daarentegen mutabel is (labiel geworden door een vroegeren prikkel, „prämutiert" als men wil).

Samenvattend leverden de feiten van het muteeren tengevolge van X-bestraling het volgende op:

Het gemakkelijkst muteert een geslachtscel. Meestal is deze mutatie, die recessief, intermediair en dominant kan wezen, monofactorieel. Daardoor ontstaat in de F_1 in het algemeen een monohybride mutant, een enkele maal (bij bevruchting van twee monofactorieel gemuteerde geslachtscellen) een dihybride. Parasteriliteit en gametische lethaliteit komen voor,

zoodat het meermalen onmogelijk is den nieuwen vorm in homozygoten toestand te krijgen.

Paralelle mutaties van aurea zijn talrijk. In eenzelfde vorm ontstaan dikwijls niet geheel gelijke, doch wel analoge aurea's, wat er op wijst, dat monofactorieele mutatie een mutatie van een chromomerencomplex kan wezen.

Het voortgezette „secundaire" muteeren in de volgende generaties leidt tot groepsgewijze muteeren.

Er komen in gering aantal ook steriele „mutanten" voor met soms bladabnormaliteiten.

De wijze van muteeren en de soort van mutanten, die ontstaan, vertoonen volkomen overeenkomst met de onderzochte gevallen van spontaan muteerende tabakslijnen.

Waar spontane mutaties bij tabak practisch waardevolle soorten zelfs in recenten tijd hebben opgeleverd, kunnen wij deze ook bij kunstmatig verwekte mutaties verwachten.

---

5. VERGELIJKING MET RESULTATEN VAN ANDERE ONDERZOEKERS.

Drosophila is genetisch het best onderzochte object, dat zich met zijn 4 chromosomen haploid ook bijzonder goed voor cytologisch onderzoek leent.

Hierbij kwam MULLER (*74*) in 1927 met zijn opzienbarende ontdekking van de veranderlijkheid der genetische samenstelling door X-bestraling. De mutabiliteit werd op deze wijze met $\pm$ 150% vermeerderd. De mutaties waren meestal monofactorieel („point mutations"): „most of them behave in the manner typical of the Mendelian chromosomal mutant genes found in organisms generally". De meeste mutanten waren recessief, dominante traden ook vrij veel op, lethaliteit was een veel voorkomend verschijnsel; vele opgewekte mutanten waren de bekende, die ook spontaan ontstaan, bovendien waren er nog nieuwe, onbekende. Tot zoover is er groote overeenkomst met onze resultaten bij tabak. Opmerkelijk is het, dat secundaire mutatie bij Drosophila nog niet werd geconstateerd: „Hundreds of non-mutated descendants of treated germ cells, also, were carried through several generations, without evidence appearing of the production of mutations in generations subsequent to the first. Larger numbers will be diserable here . . . . ".

Behalve deze genen-mutaties werden gevallen van breking en aanhechting van chromosomen aangetroffen. In een volgend onderzoek met PAINTER heeft MULLER (*75*) aangetoond, hoe buitengewoon fraai de uit genetische koppelings-wijzigingen voorspelde chromosoom-

veranderingen door cytologisch onderzoek werden bevestigd. Bij de dominante „tubby"-mutatie kon deze eigenschap in geen der 4 koppelingsgroepen worden ondergebracht en vormde een eigen vijfde groep. „Here then was the case of the apparent breakdown of the chromosome theory of heredity for which some of the opponents had long waited. The case was then submitted to the cytologist, who demonstrated in about half an hour after examining a section of an ovary, that it was a chromosome which had broken down, not the chromosome theory!"

HANSON (*68*) vond, dat het mogelijk was bepaalde mutaties door X-bestraling omkeerbaar te maken.

GOLDSCHMIDT (*62*) kreeg door behandeling der Drosophila-larven met extreem hooge temperaturen 5 maal absoluut zeker de erfelijke genenmutatie „sooty". JOLLOS (*71*) bevestigde deze uitkomsten, dat ook door extreme temperaturen mutaties opgewekt kunnen worden. WHITING (*84, 85*) verkreeg enkele mutanten bij Hadrobracon na X-bestraling.

Bij planten zijn het GOODSPEED en OLSON (*63, 64, 65, 66*) geweest, die resultaten met X-bestraling van tabak bereikten. Deze uitkomsten zijn voor ons natuurlijk van bijzondere interesse. Hoewel de sterkte en duur der bestraling der geslachtscellen niet veel van de door ons gebruikte verschilde was het aantal zichtbaar afwijkende vormen („variants"), die in de nakomelingen optraden 7—50%, m.a.w. ± 25 maal zoo groot als bij ons. Of ons KANARI-ras resistenter tegen X-stralen is of dat misschien het klimaat hierop invloed heeft, blijft voorloopig onopgelost. Waarschijnlijk als gevolg van deze veel effectievere uitwerking ontstonden tallooze abnormaliteiten in bladen en bladranden, dikwijls ook steriliteit, allemaal verschijnselen, die bij onze mutanten niet of veel minder werden opgemerkt. BAUR (*59*) meent, dat hier alleen degeneratieve-processen opgetreden zouden zijn, die met het plasma gedeeltelijk van plant op plant overgaan. Iets dergelijks vonden FRL. STEIN (*76, 77*) en STUBBE (*81*) bij X- en radium-bestraling van Antirrhinum. Er wordt dan gesproken van „Varianten", „Radiomorphosen", „Aberranten", Genovariationen", allemaal niet goed gedefinieerde begrippen, die ons deze verschijnselen niets duidelijker maken. Alleen kunnen we zeggen en HIORTH (*69*) vond dit ook bij inwerken van temperatuurschokken, dat geen duidelijke vermeerdering van factormutaties optrad bij Antirrhinum. Deze plant lijkt niet een erg geschikt object voor deze proeven, daar in deze rassen reeds spontaan geregeld 5—7 % zichtbare mutanten optreden. Om nu te besluiten: „Merkwürdigerweise verhalten zich die bisher in gröszerem Umfang untersuchten Pflanzen ganz anders" (*59*, pag. 333) lijkt niet gerechtigd. GOODSPEED heeft namelijk in talrijke gevallen cytologisch

de chromosomen-veranderingen kunnen aantoonen. Ook is er één zeker geval van een recessieve chlorophyl-mutant, die in homozygoten toestand kort na het kiemen sterft.

Dat GOODSPEED zoo weinig gevallen van monofactorieele mutanten vond, verwondert ons niet. De effectieve uitwerking der bestraling, zal ten eerste meerdere bifactorieele mutanten hebben doen ontstaan. Verder zullen deze gevallen ook meestal onuitwarbaar worden, indien secundaire mutatie op dezelfde wijze optreedt als bij ons, m.a.w. ook hier weer 25—50 % doormutatie in de volgende generaties voorkomt, en indien men rekening houdt met de sterke chromosomenfragmentatie, lethaliteits- en steriliteitsverschijnselen.

STADLER (*79, 80*) verkreeg duidelijke gevallen van mutatie-inductie door X- en radium-bestraling bij mais en gerst. Evenals GOODSPEED bij tabak vond, had bestraling van het zaad en van de jonge kiemplant ook resultaat. Er ontstonden op deze wijze dikwijls knopvariaties. STADLER kreeg 1 tot 2 % mutanten, meestal erfelijke chlorophylveranderingen, die neerkwamen op een monofactorieele mutatie van een dominant in een recessief geen. Ook kwamen bifactorieele mutanten wel voor. Deze uitkomsten vertoonen zeer veel overeenkomst met wat wij bij tabak vonden. Ook was er een geval van plastiden-mutatie (bontheid).

Bij mais had bestraling van de kiemplanten meer succes dan van het ongekiemde zaad. Reeds vanaf de zesde dag na kieming konden chimaeren door bestraling ontstaan (knopvariaties); vóór dat tijdstip veranderde de bestraling de geheele plant, die zich ontwikkelde.

Gekoppelde genen werden meestal tegelijk veranderd, ongekoppelde niet. Tarwe en haver leverden veel minder geïnduceerde mutaties op

Bij den tegenwoordigen stand van het vraagstuk, dat nog pas in het allereerste stadium van onderzoek verkeert, is een samenvattende conclusie nog onmogelijk. Het blijkt echter wel, dat het ook aan anderen gelukt is bij sommige planten duidelijke mutaties door uitwendige invloeden op te wekken.

LITERATUUR.

59. BAUR E. Einführung in die Vererbungslehre, 7e-11e druk, Berlin 1930.
60. BRIEGER F. Selbststerilität und Kreuzungssterilität, Berlin 1930.
61. BUCHHOLZ J. T. & BLAKESLEE A. F. Radium Experiments with Datura, Journal of Heredity 21: 119—129, 1930.
62. GOLDSCHMIDT R. Experimentelle Mutation und das Problem der sogenannten Parallelinduktion, Biolog. Zentralblatt 49: 541—554, 1929.

63. GOODSPEED T. H. & OLSON A. R. The production of variation in *Nicotiana*-species by X-ray treatment of sex cells. Proc. Nat. Acad. Science **14**: 66—69, 1928.

64. GOODSPEED T. H. The effect of X- rays and Radium on species of the Genus Nicotiana, Journal of Heredity **20**: 243—260, 1929.

65. GOODSPEED T. H. Cytological and other features of variant plants produced from X- rayed cells of Nicotiana tabacum. Botanical Gazette **87**: 563—582, 1929.

66. GOODSPEED T. H. Inheritance in Nicotiana tabacum IX. Mutations following treatment with X- rays and radium, Univ. of California Publications in Botany **11**: 285—298, 1930.

67. HAIGH J. C. & LOCHRIE J. V. Investigation in a mendelian ratio in Vigna sinensis by a consideration of the progeny from successive daily crosses, Annals of Botany **43**: 783—803, 1929.

68. HANSON F. B. The effect of X- rays in producing return gene mutations, Science **67**: 562—563, 1928.

69. HIORTH G. Ein Versuch über den Einflusz der Erwärmung des Pollens auf die Nachkommenschaft, Zeitschrift f. induktive Abstamm- und Vererbungslehre **56**: 39—50, 1930.

70. JOHANNSEN W. Elemente der exakten Erblichkeitslehre, 3e druk, 1926.

71. JOLLOS V. Studien zum Evolutionsproblem. 1. Uber die experimentelle Hervorrufung und Steigerung von Mutationen bei *Drosophila melanogaster*, Biolog. Zentralblatt **50**: 541—554, 1930.

72. LOTSY J. P. De rol der bastaardeering in het evolutieproces, Handelingen van het XIIIe Natuur- en Geneeskundig Congres, 1929.

73. MAVOR J. W. & SVENSON H. K. A comparison of the effects of X- rays and temperature on linkage and fertility in *Drosophila*, Genetics **9**: 588—608, 1927.

74. MULLER H. J. Artificial transmutation of the gene, Science **66**: 84—87, 1927.

75. PAINTER T. S. & MULLER H. J. Parallel cytology and genetics of induced translocations and deletions in Drosophila, Journal of Heredity **20**: 287—298, 1929.

76 STEIN E. Über Gewebeentartung in Pflanzen als Folge von Radiumbestrahlung (zur Radiomorphose von Antirrhinum), Biolog. Zentralblatt **49**: 112 — 126, 1929.

77. STEIN E. Weitere Mitteilung über die durch Radiumbestrahlung induzierten Gewebe-Entartungen in Antirrhinum (Phytocarcinome) und ihr erbliches Verhalten. Biolog. Zentralblatt **50**: 129 — 158, 1930.

78. SIRKS M. J. Handboek der Algemeene Erfelijkheidsleer, 's-Gravenhage 1922.

79. STADLER L. J. Mutations in barley induced by X-rays and radium, Science **68**: 186 — 187, 1928.

80. STADLER L. J. Some genetic effects of X-rays in plants, Journal of Heredity **21**: 3 — 19, 1930.

81. STUBBE H. Untersuchungen über experimentelle Auslösung von Mutationen bei *Antirrhinum majus* I, Zeitschrift für induktive Abstamm.- und Vererbungslehre **56**: 1 — 38, 1930.

82. TOLLENAAR D. Analyse van eenige kunstmatig verwekte mutaties in homozygote Vorstenlandsche Tabakslijnen, Verslag van de elfde Vergadering van de Vereeniging van Proefstationspersoneel **11**, 1930.

83. Vries H. de Über das Auftreten von Mutanten aus *Oenothera Lamarckiana*, Zeitschrift für induktive Abstamm.- und Vererbungslehre **52**: 121 – 190, 1929.

84. Whiting P. W. The production of mutations by X-rays in Hadrobracon, Science **68**: 59, 1928.

85. Whiting P. W. X-rays and parasitic wasps, Journal of Heredity **20**: 269—276, 1929.

VI. RICHTLIJNEN VOOR DE VEREDELING DER VORSTENLANDSCHE TABAK.

In dit hoofdstuk zullen thans nog eenige opmerkingen worden gemaakt over de consequenties van onze tegenwoordige opvattingen voor de veredelingsmethoden bij de Vorstenlandsche tabak. Een deel dezer opmerkingen werd door één onzer ook reeds elders gepubliceerd (*92, 93*).

1. DE ZUIVERE LIJN.

In 1903 kwam JOHANNSEN (*70, 90*) door een studie bij boonen tot het begrip „zuivere lijn". Selectie in uitsluitend door de omstandigheden veroorzaakte verschillen tusschen boonen-planten van één zuivere lijn had geen resultaat, omdat er geen erfelijke verschillen tusschen de planten bestonden en er dus op dit gebied niets te selecteeren viel. De boon is in het algemeen een zelfbestuiver, hoewel bevruchting door vreemd stuifmeel wel zoo nu en dan voorkomt (zie bv. Ch. DARWIN (*87*) [1]) en SIRKS (*91*)). Voortdurende zelfbestuiving leidt tot homozygotie, zoodat het wel begrijpelijk is, hoe JOHANNSEN tot dit resultaat kon komen. Niet voortdurend zelfbestoven planten, die ook aan kruisbevruchting met andere vormen blootstaan zullen, tenminste voor een deel, heterozygoot zijn. Heterozygote planten splitsen in hun nakomelingen op en daarbij zal selectie dus wel effect kunnen hebben.

Het hangt dus ook van het al of niet heterozygoot zijn af, of selectie wel of geen resultaat zal geven. En dit heterozygoot zijn, is weer het gevolg van het voorkomen van bevruchting met stuifmeel van andere rassen.

JENSEN, die de selectie in de Vorstenlanden begon, heeft het resultaat van JOHANNSEN met de boon zonder meer als grondslag voor zijn werkwijze bij de selectie der Vorstenlandsche tabak gekozen. In 1903 schreef hij „Uit JOHANNSEN's onderzoekingen valt af te leiden,

---

[1]) Pag. 153 zegt DARWIN in zijn „The effects of cross and self fertilisation":
„When the varieties of P. vulgaris grow near one another in open ground, they sometimes cross largely notwithstanding their capacity for selffertilisation'.

dat zaad door zelfbevruchting van eene plant verkregen, altijd nakomelingen met dezelfde eigenschappen als die der moederplant oplevert". Men weet thans wel, dat dit in zijn algemeenheid onjuist is. Hoe zal het nu bij de Vorstenlandsche tabak met die al of niet heterozygotie gestaan hebben?

Planters uit die dagen spreken van sterk gemengde aanplantingen. In de jaarverslagen van omstreeks 1890 - 1900 leest men geregeld over verschillendste rassen[1]): KANARI, KOOLTABAK, FLORIDA, JARA, GEGAJAM, enz.

Waar, zooals in hoofdstuk II werd bewezen, in een gemengde tabaksaanplant nu en dan kruisbevruchting moet voorkomen, is het dus waarschijnlijk, dat in het begin dezer eeuw, na tientallen jaren tabakscultuur, de aanplant voor bepaalde eigenschappen gemiddeld zwak heterozygoot was. Vóórdat de selectie door JENSEN en LODEWIJKS en het inhullen der bloeiwijzen ten behoeve der zaadwinning was begonnen, moet dus in de loop der voorafgegane tientallen jaren een zekere menging der erfelijke eigenschappen van de aangeplante rassen hebben plaats gehad. Ook EAST (*2*, pag. 293) zegt: „Though N. tabacum might be called a naturally selffertilized plant because of the frequency with which selfing occurs, nevertheless crosspollination is sufficiently common that selfed seed are likely to show numerous recombination-types". De tientallen jaren ervaring der planters heeft daarbij zeker gevoerd tot een grove schifting, waarbij zulke vormen resteerden, die het beste bij de Vorstenlandsche omstandigheden pasten. Zoo troffen JENSEN en LODEWIJKS in het begin dezer eeuw de „locale rassen" aan, waarin zij hun systematische wetenschappelijke selectie begonnen.

Wanneer we nu aannemen, dat bij de door JENSEN uitgezochte KANARI slechts 5 factoren heterozygoot waren, dan zouden hieruit door de toegepaste voortdurende zelfbestuiving 32 verschillende homozygote constante rassen naast elkaar kunnen zijn ontstaan.

Nu is het in 1925 ook aan WELTER gebleken, dat in de KANARI-aanplant der onderneming WEDI *meerdere* lijnen naast elkaar voorkwamen (die verder in hun nakomelingen constant waren), welke in niet op het veld zichtbare kwaliteitseigenschappen (b.v. kleur) verschilden. Deze lijnen waren b.v. de KW 10, KW 12, KW 48, enz. (KW = KANARI WEDI), die in bladvorm en habitus er overigens gelijk uitzagen[2]).

Verder vond COOLHAAS (*86*), dat in de KANARI-aanplant op DJOEWIRING een uiterlijk uniforme aanplant bestond uit meerdere lijnen

[1]) Van de onderneming TROETJOEK werd mij dit door de welwillende medewerking van den Heer F. A. G. L. HOFSTEDE medegedeeld.

[2]) Het is ons zoojuist gebleken, dat onderlinge kruising dezer Kanarilijnen in de F_2 ook opsplitsing in bladbreedte geeft, zoodat zij ook ten opzichte hiervan onderling verschillende factoren bezitten.

met verschillenden gemiddelden gloeiduur tengevolge van verschillende innerlijke eigenschappen, n.l. erfelijke verschillen in de chemische samenstelling van de bladasch.

Wanneer we van mutaties afzien, is hier het bewijs geleverd, dat JENSEN's KANARI *heterozygoot moet zijn geweest voor niet zichtbare „kwaliteitseigenschappen", die juist voor de practijk van het grootste belang zijn.*

Nog in 1916 generaliseerde JENSEN (*89*) de boonen-resultaten van zijn landgenoot gewoon voor tabak en lezen we: „Dit postulaat: dat plus- en min-varianten zaad van hetzelfde genotype zullen geven, is gebaseerd op de klassieke onderzoekingen van JOHANNSEN. *Ofschoon niet strikt noodig, daar de cijfers van* JOHANNSEN *geen twijfel overlaten* [1]), zou het toch voor vele planters een geruststelling zijn als wij door speciale proeven deze stelling ook voor tabak bewezen hadden". Inderdaad kunnen we nu—achteraf beschouwd—zeggen, dat dit scepticisme der planters gerechtvaardigd was en JENSEN hiermede niet erg gelukkig is geweest.

Wel ging JENSEN achteraf voor de *hoogte* der planten en voor de bladverhouding *lengte/breedte* na in hoeverre zijn postulaat juist was en inderdaad kwam hij tot de conclusie: „Het genotype van de gebruikte KANARI-lijn is *met het oog op de onderzochte eigenschap* [1]) volstrekt niet veranderd door het kiezen van plus- of min-varianten als moederplanten". Doch om het gecursiveerde gaat het juist. Wij gelooven desnoods, dat wat de bladvorm betreft de KANARI homozygoot was, maar niet wat de kwaliteit aangaat (WELTER, COOLHAAS) en dit is door JENSEN niet gecontroleerd.

Ten opzichte van de Y_{10} schrijft LODEWIJKS (*33*) in 1911: „Wie schon oben angedeutet, *musz ich die* Y_{10}, *namentlich die Nachkommen einer der Mutterpflanzen dieser Linie, weil sie nicht genetisch einheitlich waren,*[1]) von einer eingehenden Behandlung ausschlieszen".

Het was dus aan LODEWIJKS duidelijk, *dat de* Y_{10} *in 1911 nog allerminst een zuivere lijn was!*

De gevolgen van dit inzicht zijn voor de practijk zeer belangrijk. In de Y_{10} is op de ondernemingen door de employés veelal geselecteerd op groote boomen, die voor zaadwinning werden uitgekozen, *zonder contrôle op de kwaliteit en die der nakomelingen.* De kans is daardoor groot, dat dit een selectie in de richting van grovere tabak ten gevolge heeft gehad.

Er is dan ook geen twijfel aan, dat het de moeite waard zal wezen opnieuw in het oude zaadmengsel der Y_{10} en KANARI te gaan

---

[1]) Cursiveering door ons.

selecteeren met in achtname speciaal der kwaliteitseigenschappen. Deze selectie dient op de ondernemingen plaats te hebben, omdat de kwaliteit zeer sterk op de omstandigheden reageert en het te verwachten is, dat de ééne onderneming andere nummers uit zal kiezen dan de andere. *Het laatste gedeelte der selectie op kwaliteit dient dus gedecentraliceerd plaats te hebben onder de locale omstandigheden der ondernemingen.*

De firma CRONE en de *Vereenigde Klattensche Cultuur Mij.* hebben naar aanleiding hiervan besloten door selectionisten onder leiding van het Proefstation de selectie op de ondernemingen KETANDAN, SOROGEDOOG, TROETJOEK en WEDI in het oudste Y_{10}- en KANARI-zaadmengsel, dat we bezitten en dat dateert van 1911 en 1913 (oudere mengsels zijn helaas niet aangehouden!) opnieuw te beginnen. In deze Y_{10} was reeds wat de bladvorm betreft in de aanplant 1930 een aanmerkelijke variabiliteit waar te nemen. De vergelijkende nakomelingenbeoordeeling zal ons leeren of we hier met erfelijke verschillen te maken hebben.

---

2. KRUISING EN DE HIEROP VOLGENDE SELECTIE.

De talrijke kruisingen door JENSEN (*30*) uitgevoerd hebben voor de practijk niets opgeleverd. d' ANGREMOND is een tiental jaren later opnieuw begonnen om te trachten door kruising nieuwe voor de practijk betere constante vormen te verkrijgen. Daarbij werd uitgegaan van het idee, dat om tot een resultaat te komen men van locale en dus van verwante rassen uit dient te gaan, die niet te veel uiteenloopen en ten tweede, dat men gedurende vele generaties in de nakomelingen moet doorselecteeren.

Het is gebleken, dat men op deze manier wel degelijk tot practische resultaten kan komen. Over deze werkwijze is de laatste 15 jaren een belangrijke ervaring opgedaan.

DE NOODZAKELIJKHEID OM SLECHTS NAUWVERWANTE RASSEN TE KRUISEN.

Deze voorwaarde voor slagen vindt in het volgende zijn grondslag. Bladvorm en kwaliteit worden zooals we zagen door een enorm aantal genetische factoren beheerscht. Nemen we nu eens aan, dat we twee planten hebben, waarvan A breedbladiger is dan B, terwijl dit verschil veroorzaakt wordt door 3 breedte-factoren, voor elk waarvan „breed" dominant is over „smal".

B is daarentegen van veel betere kwaliteit dan A, welk verschil het gevolg is van 10 factoren, die „betere kwaliteit" veroorzaken bij B, van welke 10 factoren voor de helft de „slechtere kwaliteit" domineert, voor de helft de „betere kwaliteit".

Kruisen we nu deze twee planten met de bedoeling om op den duur een constant ras te verkrijgen met de breedte van A en de kwaliteit van B, dan zouden wij in de F_2 slechts één zoo'n plant op de $2^{18} = 1$ op ± $^1/_4$ miljoen kunnen verwachten.

Op ± 17 bouw zouden wij één zoo'n plant kunnen verwachten, die dan bovendien op het veld wel door niets te onder scheiden zou zijn van zeer groote aantallen even breedbladigen. De kans,- indien wij al in staat zijn $^1/_4$ miljoen boomen te controleeren-, om deze boom er uit te halen is dus minimaal klein. Bij de beoordeeling der kwaliteit zou deze boom dan, als hij een niet te slechten standplaats had, waarschijnlijk boven de andere worden verkozen.

Indien wij nu elk jaar 3 oogsten van 800 boomen nemen (dus 2400 monsters tabak hebben te beoordeelen) moeten daar toch wel eenige der „ideale" planten onder verwacht kunnen worden. Onder de bovengenoemde voorwaarden mag de kwaliteit dan in nog niet eens 6 factoren verschillen. Daar dit voor tabak zeker zeer gering is, omdat bijna elk factorverschil ook kwaliteitsverschil meebrengt, begrijpen wij dus, *dat alleen kruising van zeer naverwante locale rassen practische perspectieven opent.*

Er is nog een reden, waarom kruising met *nieuwe* vreemde rassen minder kans op resultaat biedt dan die van locale rassen, welke ontstaan zijn door tientallen jaren naast elkaar kweeken en kruising van oorspronkelijk vreemde rassen.

Belangrijke verschillen in genen-samenstelling zelfs tusschen homologe chromosomen mogen we veronderstellen bij uit verschillende landen geïmporteerde rassen. Bijvoorbeeld: de éène Javaansche variëteit heeft A_1 A_2 A_3 A_4 b_1 b_2 in een correspondeerend chromosoom, waarin de Japansche tabak a_1 a_2 a_3 a_4 B_1 B_2 heeft, als A_1, A_2, A_3, A_4 genen voor goede kwaliteit (a_1—a_4 slechte kwaliteit) en B_1, B_2 genen voor breed blad (b_1, b_2 voor smal blad voorstellen). In dat geval zal kruising niets helpen, omdat nieuwe combinatie-mogelijkheden in de F_2 niet te verwachten zijn ten gevolge van de koppeling der factoren in één chromosoom.

Waarom heeft men na tientallen jaren naast elkaar kweeken nu meer kans in de zoo ontstane „locale rassen" kleinere verschillen te verwachten tusschen de homologe chromosomen?

De voorkomende kruising zal in de loop der tientallen jaren gelegenheid hebben gegeven tot „overkruising", uitwisseling der chromomeren, dus nivelleering der verschillen tusschen de homologe chromosomen.

Voor de practijk is het feit van belang, dat *vooral bij de F_2 in een groot aantal nakomelingen moet worden geselecteerd.* In latere generaties kan men het aantal nakomelingen, dat van één boom wordt gekweekt voor selectiedoeleinden, beperken.

DE VERDERE SELECTIE NA DE F_2- GENERATIE.

Stel, dat in de F_2 een plant met de verlangde eigenschappencombinatie van A en B werd gevonden, dan zijn we er nog lang niet en als we niet erg oppassen en geluk hebben ontglipt ons deze combinatie weer in volgende generaties. Wij hebben namelijk groote kans, dat de aangetroffen uiterlijk ideale vorm heterozygoot is en dan volgt opsplitsing in allerlei typen. Zoo moeten wij dus opnieuw selecteeren en dit om dezelfde reden nog verscheidene generaties voortzetten. Denkt men er bovendien aan, dat we in droge jaren haast niet kunnen beoordeelen en grootendeels op geluk af moeten gaan, dan zal men opnieuw begrijpen, dat wanneer wij niet zorgen, dat een behoorlijk aantal planten per-mille aanwezig is, in de practijk weinig van dit omvangrijke en moeizame kruisingswerk terecht komt.

Bij voortgezette selectie wordt het ras steeds homozygoter en de practijk heeft voor de EK geleerd, dat men ongeveer bij de F_8—F_{10} al een vrij constant ras heeft wat de bladvorm betreft, doch wat de kwaliteit aangaat is dit dan nog niet het geval.

Zooals in naaststaand schema is aangegeven zal de selectie op de proefstationterreinen tot zoo lang op de twee hoofd-grondtypen der Vorstenlanden (fijne juveniele Merapislib en zware mergelklei) worden uitgevoerd. Op beide zeer verschillende grondsoorten zal men zeker niet dezelfde vormen als beste uitkiezen. Bij de $\pm$ F_8 moet de selectie verder op de ondernemingen, waarvoor ze bestemd zijn, gedecentraliseerd worden voortgezet. De selectie is dan voornamelijk een selectie op kwaliteit geworden en is te vergelijken met de zwak heterozygote KANARI-mengsels van $\pm$ 1912. Dit zaad, dat het Proefstation dan uitgeeft heeft in de practijk de naam van *moederboomzaad* gekregen en vormt dus het uitgangspunt voor verdere *kwaliteitsselectie.*

Kan men geen selectionist voor zijn onderneming beschikbaar stellen, dan doet men het beste *niet te selecteeren.*

Vele ondernemingen lieten tot nu toe door hun employés groote boomen voor de zaadwinning uitzoeken, *zonder contrôle op kwaliteit* (kleur, fijnheid, geur, brandbaarheid). Men heeft een groote kans, dat daardoor in een verkeerde richting, bijvoorbeeld van grof blad wordt geselecteerd.

En doordat de rassen steeds homozygoter worden, legt men deze slechte eigenschappen vast. Zoo kan dus een belangrijke fout gemaakt zijn. Dus: *zonder systematische contrôle op de kwaliteit door een selectionist selecteere men beter niet.*

Men vrage dan liever elk jaar het oude moederboomzaad, dat dan wel niet geheel zuiver is, maar een beproefd ras vertegenwoordigt.

Of men hult ieder jaar een groot aantal bijeenstaande boomen *zonder eenige voorkeur* in en mengt het zaad.

Ook kan men doorgeselecteerd zaad van een zuster-onderneming met gelijk grondtype en overeenkomstige omstandigheden eens beproeven, waarbij men goede kans loopt ook voor zijn onderneming iets beters te vinden.

In ieder geval raden wij de ondernemingen, die de bovengenoemde fout maakten, aan op het oude moederboomzaad terug te grijpen.

In bijgaande schema is een overzicht gegeven van de tegenwoordige organisatie der veredeling door kruising.

TABEL 14. SCHEMA DER TABAKSVEREDELING DOOR KRUISING.

	$P_1 \times P_2$	F_1	F_2 →	$\pm F_8$ →	$\pm F_{20}$
Genetische eigenschappen	Beide homozygoot en nauw verwant	Heterozygoot (matig) Uniform	Groote variabiliteit. Gemiddeld matige heterozygotie	Zwak heterozygoot. Bladvorm vrijwel homozygoot; kwaliteit nog heterozygoot	Homozygoot. Constant voor alle eigenschappen
Werkzaamheden	Kruising	Selectie niet noodig	→ Voortdurende selectie en zelfbestuiving van planten met goeden bladvorm en kwaliteit: A. op mergelgrond B. op juveniel vulkaanslib		→ Voortgezette selectie, voornamelijk op de kwaliteitseigenschappen, gepaard gaande met zelfbestuiving op diverse ondernemingsterreinen
Uitvoering	Door het Proefstationspersoneel				Door ondernemingsselectionisten onder leiding van het Proefstation.

3. TERUGKRUISING

De methode om in de F_1 en volgende generaties terug te kruisen met één der beide ouders werd reeds door d'ANGREMOND (*23, 24*) ingevoerd op instigatie van de werkwijze op dit gebied in Svalöf.

De E × KANARI F_1 wordt daarbij teruggekruist met de KANARI. Wat is nu de bedoeling hiermede?

Wanneer wij geen nieuwe genenparen invoeren, kunnen wij ook geen nieuwe combinatie-mogelijkheden verwachten, dus niets anders dan wat wij bij zelfbestuiving van EK F_1 zouden verkrijgen.

Echter hebben wij in de practijk, zooals we eerder zagen, nog met een andere factor rekening te houden, n.l. of de gezochte genencombinatie *in een voldoend percentage* voorkomt. Wanneer 1 per 500 planten de gezochte combinatie oplevert, lijkt dit al wel de laagste grens, want gezien het feit, dat kwaliteit niet aan de plant te velde te zien is, hebben wij dan nog groote kans deze plant niet te selecteeren.

Nu hebben wij eens uitgerekend, hoeveel percent van het verlangde wij kunnen verwachten wanneer de gunstige bladvorm van de E door één genenpaar, de goede kwaliteit der KANARI daarentegen door 1, 2, 3, 4, ... n genenparen wordt beheerscht. De berekening leidt tot de volgende percentages der gezochte genencombinatie, die in de eerste kolom in een algemeene formule uitgedrukt zijn. In de tabel wordt vergeleken het resultaat bij zelfbestuiving van EK F_1 vergeleken met EK F_1 × KANARI voor de eerste twee daaruit voortkomende generaties F_2 en F_3.

TABEL 15. PERCENTAGE DER GEWENSCHTE TABAKSSOORT.

		b/k	1/1	1/2	1/3	1/4	1/6	1/8
Bij zelfbestuiving	F_2	$(\frac{1}{4})^{k+b}$	6.3	1.6	0.4	0.1	0.06	0.004
	F_3	$(\frac{3}{8})^{k+b}$	14	5.3	2	0.75	0.105	0.015
Bij terugkruising in F_1 met Kanari	F_2	0	0	0	0	0	0	0
	F_3	$\frac{5^k}{8^{k+b}}$	7.8	4.9	3.1	1.9	0.7	0.3

Hierin stellen voor: b = 1 = aantal genenparen, waardoor de bladvorm wordt bepaald.

k = aantal genenparen, waardoor de kwaliteit wordt bepaald.

Wat wij hieruit af kunnen lezen is: hoe meer het genenaantal, hetwelk de kwaliteit bepaalt dat, hetwelk den bladvorm beheerscht overtreft, hoe meer zin het terugkruisen heeft met de „goede kwaliteit" bezittende KANARI.

Zoo zien wij, dat bij de verhouding b/k = 1/6 bij nog maar 1 op de 1000 planten het gewenschte in F_3 wordt verkregen bij zelfbestuiving, terwijl bij eenmalige terugkruising, in F_3 er nog 7 op de 1000 voorkomen.

Het is zonder verdere schema's wel duidelijk, dat meermalig terugkruisen nog verder in de genoemde richting werkt.

De practijk-man zegt, dat men er door terugkruisen met KANARI meer „KANARI-bloed" inbrengt. Waar dit eigenlijk op neer komt wordt ons nu duidelijk. Want het blijkt, dat er geen soorten ontstaan met meer KANARI-bloed dan bij zelfbestuiving van EK, immers iets anders kan door de terugkruising niet ontstaan, maar wel treden die combinaties, waarin veel genenparen van de KANARI voorkomen, steeds talrijker op naarmate wij meer met KANARI terugkruisen. Zoo zullen zich steeds meer zuivere KANARI's afsplitsen, steeds minder zuivere E 's, de breedbladigheid zal een steeds zeldzamer verschijnsel worden, de goede kwaliteit een steeds veelvuldiger frequentie hebben.

Echter zullen wij nu *onder deze zeldzaam voorkomende breedbladigen een veel grootere kans hebben ook de goede kwaliteit aan te treffen* dan vroeger onder de breedbladigen, die bij zelfbestuiving ontstonden.

En dit is practisch zeer belangrijk. Breedbladigheid is op het oog direct te selecteeren, kwaliteit niet. De kwaliteitssortatie der breedbladigen levert bij zelfbestuiving maar een klein percentage, dat in de goede kwaliteitsrichting gaat; het blijft sterk toevalwerk, en het rendement van het werk is dus gering.

Door terugkruising kan de kans op uitselecteeren van de gewenschte combinatie dus vergroot worden.

---

4. VEREDELING DOOR KUNSTMATIG OPWEKKEN VAN MUTATIES.

Doordat we nog midden in de bestudeering van het vraagstuk der kunstmatig verwekte mutaties zitten, is het onmogelijk reeds thans een vaste richtlijn aan te geven.

Onze bedoeling willen we hier echter kort uiteenzetten.

Het tegenwoordig aantal locale vormen, tengevolge van het weggooien van de oude Vorstenlandsche zaadmengsels, is te beperkt voor selectie-doeleinden. Kruising met andere dan de locale rassen geeft evenmin hoop op veel practische resultaten.

Het zou daarom belangrijk zijn, als wij in de locale rassen *kleine* wijzigingen konden brengen, bv. een verbetering van de kwaliteit, of

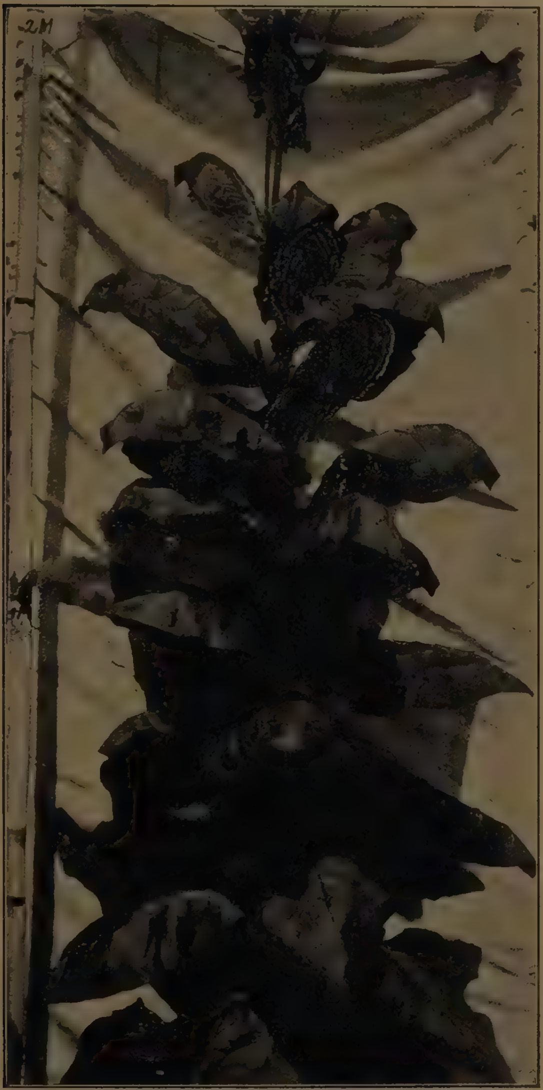

Foto 19. 113/1929 V.A. F_6 eener selectie op breedbladigheid in de nakomelingen van een terugkruising der EK met Kanari.

113/1929 V.A. F_6 of a selection on broad leaf of a back-cross between EK and Kanari.

Foto 20. Halfdubbelbloemige (recessief) en breedbladige bifactorieele spontane mutant.

Natural bifactorial mutation with (recessive) rudimentairy catacorolla and broad leaves.

een verbreeding van blad of een grooter aantal bladen, alles overigens met behoud van de oude eigenschappen.

Wij hoopten op monofactorieele mutaties en het is nu al gebleken, dat het mogelijk is deze te verwekken en ook om eenige van deze reeds na één of twee generaties constant te krijgen. Ook dit laatste is zeer belangrijk, daar wij bij een kruising hiervoor een twintigtal generaties noodig hebben.

Het is nog de vraag of deze monofactorieele mutaties niet dikwijls mutaties van een geheel genencomplex zullen wezen, zoodat we dan toch te ver van onze locale rassen zouden af komen.

De F_1- generatie der kruisingen van de homozygote mutanten met KANARI en Y_{10} zullen ons wellicht in staat stellen nog dichter bij het oude locale ras te komen. Zoo zal het volgend jaar in vakkenproeven KANARI worden vergeleken met de KANARI × *chlorina* F_1 en de KANARI × *elliptica* F_1.

Meermalen hoort men de vrees uitspreken, dat de mutaties niet het verlangde ras zullen opleveren. Inderdaad kunnen wij de mutaties niet in een bepaalde richting (bv. van breed blad) doen verloopen, wat wij bij kruising gedeeltelijk wel in de hand hebben.

En waar het aantal eischen, dat wij aan een goede tabaksvariëteit stellen zéér groot is, zal zeker slechts een heel klein percentage der mutanten aan de verlangens beantwoorden. Het zal er daarom op neerkomen een groot aantal nakomelingen van bestraalde bloemknoppen op te kweeken en daarin te selecteeren. Onze voorloopige ervaring wijst erop, dat we dan kans hebben practisch waardevolle vormen te vinden.

STADLER (*80*) heeft onlangs zijn standpunt tegenover de practische zijde van het mutatie-vraagstuk ook aldus uitgesproken, waar hij zegt, dat bij cultuurplanten waarvan we door voortdurende zelfbestuiving constante onveranderlijke rassen hebben gekregen, weinig verbetering meer te verwachten is zonder mutatie: „Their further improvement is difficult, for as inbreeding proceeds they approach complete homozygosity and offer little opportunity for selection. If new variation could be introduced bij induced mutation, even though most of the variations were unfavorable, some further improvement by selection might be possible".

LITERATUUR.

86. COOLHAAS C. Erfelijkheid van verschillen in de chemische samenstelling van de bladasch bij uiterlijk identieke tabakslijnen, Verslag van de elfde Vergadering van de Vereeniging van Proefstationpersoneel II, 1930.

87. DARWIN CH. The effects of cross and self fertilisation in the vegetable kingdom, 2e druk, 1900.
88. JENSEN HJ. De zaadwinning van zuivere lijnen op de ondernemingen, Med. Proefstation v. Vorstenl. Tabak 2: 37 — 53, 1915.
89. JENSEN HJ. Over nakomelingen van plus- en min-varianten van zuivere lijnen bij tabak, Med. Proefstation v. Vorstenl. Tabak 24: 43—56, 1916.
90. JOHANNSEN W. Ueber Erblichkeit in Populationen und in reinen Linien, Jena, 1903.
91. SIRKS M. J. Die Verschiebung genotypischer Verhältniszahlen innerhalb Populationen laut mathematischer Berechnung und experimenteller Prüfung, Med. Landbouwhoogeschool 26, 4: 1 — 39, 1923.
92. TOLLENAAR D. Richtlijnen en Resultaten der Veredeling bij de Vorstenlandsche Tabak, De Bergcultures, Jubileumnummer 1930.
93. TOLLENAAR D. Richtlijnen bij den opzet der Vorstenlandsche tabaksveredeling, Verslag van de elfde Vergadering van de Vereeniging van Proefstationpersoneel 11, 1930.

VII. SUMMARY.
PRINCIPLES AND RESULTS OF RECENT TOBACCO-BREEDING IN THE VORSTENLANDEN.

I. INTRODUCTION.

In this publication the present-day foundation of tobacco-breeding in the Sultanates is explained. Selection, crossing and induced mutation are now employed to attain this improvement.

II. BIOLOGY OF THE TOBACCO-FLOWER.

The time between flower-formation and flowering is about two weeks at Klaten; thereupon another three weeks are needed for the ripening of the seed. If bagged in linen these periods are respectively eight weeks and one month.

It has been proved that cross-pollination in nature occasionally must occur, notwithstanding the fact that by the opening of the flowers selfing has generally just taken place. Table 2 shows that if eight hours after selfing the pistil is pollinated with pollen of another variety still 11 % of the progeny are hybrids.

In numerous ways it has been endeavoured to attain parthenogenesis with many tobacco-varieties; but in vain. Parthenocarpy is of fairly common occurence; and by OKINAWA (photo 1) and TIMOR phenospermy. Cross-pollination also did not induce parthenocarpy in our experiments. It did prove that phenospermy sporadically occurred in the same plant, so that hitherto un-discovered influences are at work.

Thus in spite of a few known cases of parthenogenesis in the litterature about tobacco, we need not generally speaking fear any disturbing influence from this source on the genetic analysis.

III. a. MATERNAL HEREDITY OF AND ALBOMACULATA-TYPE OF VARIEGATION.

The heredity was exclusively maternal. Seeds of external white fruits produced pure white seedlings, not able to live; green-white striped fruits yielded: pure white, variegated and pure green offspring. Green fruits on variegated plants yielded pure green seedlings only.

Also the anatomy of the leaf shows the albomaculata-type of CORRENS (*18,19*) thus deviating from the case of mantelchimaere-variegation described by HONING (*21*).

It is also possible to distinguish this albomaculata-variegation from the contagious variegation (virus-disease) discovered by THUNG. The contagious variegation is infectious, is not transmitted with the seed, while the white spots are not capable of producing starch from a sugar-solution (photo 3-5) as contrasted with the hereditary albomaculata-variegation.

III. *b.* INHERITANCE OF SHAPE AND QUALITY OF LEAF.

Attention is called to the fact that it is easier and quicker to analyse the factors of quantitative characters by the simple segregating induced and natural mutations, than by polyhybrids of crossings.

Mendelian heredity of quantitative characters in tobacco is supported by:

1. the uniformity in habit of F_1-generations.
2. the great range of variation in F_2-generations.
3. the deminution in the range of variation in F_3-and succeeding generations and the possibility of producing pure strains by further inbreeding.

F_1-generation: Since by clear-cut segregating mutations recessive as well as intermediate and dominant broad-leaf is ascertained, it is supposed that the usual intermediate character of the F_1 of polyhybrids must be assumed to be a resultant of partly recessive, partly intermediate and partly dominant broad-leaf factors. It is therefore necessary for the selection to determine the nature of this resultant for every crossing between two genetically un-known varieties.

F_2 and succeeding generations: The greater extent of size of leaf of the F_2 is expressed in the greater coëfficient of variation with regards to the F_1.

A distinct positive transgression is shown as a result of the selection in the F_{13} of a cross between E and KANARI (photo 9).

The number of different pairs of factors: That a greater number of factors are responsible for quality than for leaf-width is supportable by the experience that:

1. it is easier to breed broad leaf than good quality.
2. broad leaf breeds true sooner than quality.

In the progeny of a cross between E and KANARI segregation was still to be found in the F_{11} in the colour of the leaf.

After the F_{10} no more segregation in the leaf-width was noted.

In connection with the slender chance of finding a desired quality it is necessary to cross genetically closely related varieties.

IV. NATURAL MUTATION.

Mutation is a sudden change in the hereditary characters, in so far as these are not due to a new combination by crossing.

In table 7 all clear cases of natural mutation, known to us, have been compiled. It would appear to be mostly mono-factorial mutations, which can be either recessive, intermediate or dominant. In most cases mutation in a sex cell must have taken place, and a hybrid was produced.

The experience of HAYES (*26, 27*) with CUBA tobacco of an „indeterminate growth"-mutation is mentioned in the litterature, also by EAST (*2*), as a typical case of homozygous bud-mutation. JONES (*50*), however, proved that this mutation is recessive. Therefore it is impossible to ascertain with any certainty whether this mutation was not selected in the previous generation as a recessive hybrid (originating from a mutated sex cell). This is in all probability the case, as five specimen were found, and it seems improbable to presume that five times the same mutation had arisen; more likely this represents segregation of a hybrid. We have found one clear case of a bifactorial mutation (photo 20, 9 and 10). Return-mutations in our local dwarf-mutation and in the catacorolla mutation are known. Thus the mutation often appears reversible.

Natural mutation often took place in groups in the same generation or following generations, exactly as by DE VRIES' Oenothera.

V. INDUCED MUTATIONS WITH X- RAYS.

The note-worthy results obtained by MULLER (*74*) with Drosophila caused us to examine the same with regards to tobacco.

Inflorescences of a pure KANARI-strain were used, being X-rayed at a distance of 35 cm. with a tension of 50 K.V. and about 3 m. A. for five and ten minutes. All withered blooms and fruits were previously removed.

In three successive times seed was harvested. In the later seed only mutations were found, and as furthermore from every mutation only one heterozygous specimen appeared (except for one homozygous) it is probable that the mutation took place in the sex cells. Only one mutation was visible after the 5 minutes X-raying in about 2500 plants; after the ten minutes X-raying considerably more (table 8).

Of the twenty forms examined eighteen showed a simple segregation, whereby KANARI was segregated beside the new form. Thus these monofactorial mutations originated as hybrids. Only one mutation originated as a homozygote, and a bifactorial mutation originated as a hybrid, probably by the union of two monofactorial mutated sex cells.

Genetic analyses of different induced mutations are described in detail *(elliptica, chlorina, lancifolia, aurea*-types, *gigas)*.

The following general conclusions are arrived at:

The X-raying aroused a small percentage of mutations, these in most cases representing a monofactorial mutation of the sex cells.

With regards to previous characters the change might be dominant, intermediate as well as recessive. Often the new mutations showed genetic lethality and parasterility.

Parallel mutations of the *aurea*-type were numerous. In one and the same breed frequently arose not similar but analogus *aureas*, which indicates that the monofactorial mutation can be a mutation of a chromomer-complex.

In the F_2- and F_3- generation new forms were segregated by mutation (about $^1/_2$ to 1 % visible new mutations). So without X-raying the mutation in groups is continued.

Here we have a typical case how a strain by external conditions suddenly arrives at a period of mutation for several generations. No direct cause in the external conditions can account for this mutation in groups. We now also understand how strains can originate beside each other, one being inmutabel, whereas the other for instance is very labile with regards to the *aurea*-factor.

Thus a great analogy exists between natural mutations and our induced mutations.

VI DIRECTIONS FOR TOBACCO-BREEDING.

It is certain that the tobacco-plants selected in the beginning of this century, the Y_{10}, the KANARI and E, which formed the basis for the tobacco-culture in the Sultanates, must have been slightly heterozygous. As they grew in a population cross-pollination must have occurred. Furthermore many pure strains were detached from the progeny, varying in chemical composition, quality, glowing duration and even leafform.

It is only of practical interest to cross local genetically slightly deviating varieties with each other; as otherwise the chance to hit the right combination becomes too small. Table 14 shows schematically the course of activities after crossing.

Furthermore the principles of the method of back-crossbreeding are described.

The importance is discussed of the artificially raising of mutations for the derivation of tobacco-strains, becoming constant at an early date, and only slightly deviating from the local type.